

EPISODISCHE WACHSTUMSHORMONSEKRETION

Beobachtungen an Patienten mit aktiver und
inaktiver Akromegalie und Kontrollpersonen

Helmut Huff

1977



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Medizinischen Klinik Innenstadt der Universität München
Direktor: Professor Dr. med. E. Buchborn

EPISODISCHE WACHSTUMSHORMONSEKRETION
Beobachtungen an Patienten mit aktiver und
inaktiver Akromegalie und Kontrollpersonen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München



vorgelegt von
Helmut Huff
aus Arnstorf

1977

Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft
(SPB 51)

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität München

Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. K. v. Werder

Mitberichterstatter: Prof. Dr. E. Buchborn

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 22.12.1977



Meinen Eltern

Ich danke Herrn Professor Dr. P. C. Scriba für die Aufnahme in die Arbeitsgruppe Endokrinologie der Medizinischen Klinik Innenstadt der Universität München.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Priv.-Doz. Dr. K. von Werder für die Überlassung des Themas. Seine große wissenschaftliche Erfahrung und seine unermüdliche Hilfsbereitschaft waren zur Durchführung der vorliegenden Arbeit unentbehrlich.

Mein herzlicher Dank gilt auch Herrn L. Bestler für die graphischen Darstellungen und Fräulein F. Haag für die photographischen Abbildungen.

Für die Durchführung der Cortisolbestimmung danke ich Fräulein R. Fröhlich.

INHALT

1. EINLEITUNG
2. METHODEN UND MATERIALIEN
 - 2.1. Radioimmunologische hGH-Bestimmung
 - 2.1.1. Prinzip und Darstellung der Eichkurve
 - 2.1.2. Radioaktive Markierung von hGH
 - 2.1.2.1. Prinzip der Markierung
 - 2.1.2.2. Reagenzien und Geräte
 - 2.1.2.3. Vorbereitung der Sephadex-G-50 Säule
 - 2.1.2.4. Jodierung
 - 2.1.2.5. Nachreinigung
 - 2.1.2.6. Spezifische Aktivität
 - 2.1.2.7. Meßgeräte
 - 2.1.3. hGh - RIA
 - 2.1.3.1. hGH - RIA S.O.R.I.N.
 - 2.1.3.2. Ziegen-Antikörper
 - 2.1.3.3. Kaninchen-Antikörper K III
 - 2.1.3.4. Präzision, Sensitivität und Spezifität
 - 2.2. Blutzuckerbestimmung
 - 2.3. Bestimmung der freien Fettsäuren (FFA)
 - 2.4. Cortisolbestimmung
 - 2.5. Kontinuierliche Blutabnahme
 - 2.5.1. Kontinuierliche Blutentnahme bei Insulinhypoglykämietest (IHT)
 - 2.5.2. Kontinuierliche Blutentnahme bei Argininbelastungstest
 - 2.5.3. Kontinuierliche Blutentnahme bei Akromegalie
3. ERGEBNISSE
 - 3.1. IHT bei Normalpersonen
 - 3.2. Argininbelastungstest bei Normalpersonen
 - 3.3. Floride Akromegalie
 - 3.3.1. Kasuistik
 - 3.3.2. Ergebnis der kontinuierlichen Blutentnahme

II

- 3.4. Inaktive Akromegalie
 - 3.4.1. Kasuistik
 - 3.4.2. Sekretionsmuster von hGH
- 3.5. hGH-Sekretionsmuster eines Patienten vor und nach Hypophysectomie
- 4. DISKUSSION
- 5. ZUSAMMENFASSUNG - Summary
- 6. Literaturverzeichnis

1. EINLEITUNG

Menschliches Wachstumshormon

Menschliches Wachstumshormon (human growth hormone = hGH) wird von den somatotrophen Zellen des Hypophysenvorderlappens (HVL) synthetisiert und sezerniert. Der Anteil von hGH am Trockengewicht der Hypophyse beträgt etwa 5 mg, die tägliche Produktionsrate wird mit 350 - 600 µg angegeben (3, 75, 50).

Es weist, anders als etwa Insulin oder ACTH, eine hohe Artspezifität auf und läßt sich chemisch, immunologisch und in seiner biologischen Wirkung vom GH anderer Säugetierarten unterscheiden (5, 35).

Wie alle Hormone des HVL ist hGH ein Peptidhormon. Die 1966 von LI, LIU und DIXON aufgeklärte Aminosäuren-Sequenz (47) mußte wegen zu geringer biologischer Wirkung des synthetisierten Hormons 1971 von LI und DIXON revidiert werden (48). Danach handelt es sich um ein einkettiges Polypeptid mit 191 Aminosäuren und zwei Disulfidbrücken. Das Molekulargewicht beträgt 21500, der isoelektrische Punkt liegt bei pH 4.9.

Die im Serum und in Hypophysenextrakten nachweisbaren, höhermolekularen Proteinfraktionen mit hGH-Immunoreaktivität (sogenanntes "big-" und "big-big hGH") sind mit großer Wahrscheinlichkeit Vorstufen der Hormonsynthese, wie sie von anderen Polypeptiden schon länger bekannt sind (83).

Wachstumshormon kann mit biologischen Methoden wie dem von GREENSPAN et al. entwickelten Rattentibiostat, der für die Messung von Plasmaspiegeln zu unempfindlich ist (30), oder neuerdings mittels Radiorezeptorassays bestimmt werden (37). Die Standardisierung von hGH-Präparationen erfolgt über die Messung der Gewichtszunahme von hypophysektomierten Ratten nach subkutaner Injektion (58).

hGH-Plasmaspiegel werden derzeit radioimmunologisch gemessen, ein Prinzip, das 1960 von YALOW und BERSON für Insulin eingeführt (85), und 1962 von UTIGER et al. (76), später von GLICK et al. (27)

und SCHALCH et al. (69) für hGH angewendet wurde. Die radioimmunologisch bestimmten hGH-Plasmaspiegel liegen beim Erwachsenen normalerweise zwischen 0.5 und 5 ng/ml, beim Neugeborenen können sie 50 ng/ml, beim Fetus sogar 200 ng/ml erreichen (41).

Regulation der hGH-Sekretion

Sekretion und Synthese unterliegen der Kontrolle durch releasing- und inhibiting-Hormone, die von hypothalamischen Nervenzellen sezerniert werden. Während die Struktur des bereits 1964 erstmals nachgewiesenen growth hormone releasing factor (GRF) noch unklar ist (70), konnte das GH-inhib. Hormon (GRIH) als Peptid mit 14 Aminosäuren identifiziert werden (10).

Daneben unterliegt die hGH-Sekretion zahlreichen neuralen und metabolischen Einflüssen. So führen Blutzuckerabfall mit und ohne Hypoglykämiesymptome, Fasten, körperliches Training, Zufuhr von 2-Desoxy-Glucose und Arginin zu einer Erhöhung der hGH-Plasmaspiegel. Die insulininduzierte Hypoglykämie und die intravenöse Argininbelastung sind als Routinetest zur Prüfung der HVL-Funktion in die Klinik eingeführt worden (54, 65). Besonders aussagekräftig ist der Insulinhypoglykämie-Test (IHT), da mit ihm neben der hGH-Sekretion auch die Achse HVL-Nebennierenrinde (31) und die Prolactin-Sekretion (46) überprüft werden können. Verschiedenste Streßformen, wie chirurgische Eingriffe, Traumen, seelische Belastung sind ebenso Stimulatoren der hGH-Sekretion wie die akute Senkung der freien Fettsäuren (FFA) durch Nicotinsäure (61), intramuskuläre Injektion von Glucagon (84), und der Beginn der Tiefschlafphase. Durch Glucosezufuhr wird die hGH-Sekretion supprimiert, Abweichungen von diesem Verhalten zeigen Patienten mit Akromegalie - die fehlende Suppression ist ein diagnostisches Kriterium - Urämie und Bronchialcarcinom. Hypercortizismus, erhöhte freie Fettsäurespiegel (FFA-Spiegel), Hypothyreose, Adipositas, Schwangerschaft hemmen die hGH-Sekretion ebenso wie Gestagene, alpha-Blocker und Sedativa, Substanzen, die bei der Behandlung der Akromegalie eingesetzt werden können (82). Höheres Alter scheint keinen Einfluß auf die hGH-Ausschüttung zu haben (20).

Biologische Wirkung von hGH

hGH ist ein stark anabol wirkendes und damit wachstumsförderndes Hormon. Sowohl die Aminosäuren-Aufnahme in die Zelle als auch die Proteinsynthese werden katalysiert, Kreatinin und Kreatin im Harn nehmen nach hGH-Zufuhr als Zeichen der gesteigerten Stickstoffretention ab, die Hydroxyprolinausscheidung infolge des erhöhten Kollagenumsatzes zu (39). In-vitro-Untersuchungen über den Einbau von radioaktivem Sulfat und Thymidin in Knorpelgewebe lassen vermuten, daß die hGH-Wirkung nicht direkt, sondern über die Vermittlung von Peptiden, den "Somatomedinen" erfolgt (34).

Im Kohlenhydratstoffwechsel wirkt hGH als Insulinantagonist. Auf Zufuhr von hGH läßt sich in vivo und in vitro nach kurzem, insulinsynergistischem Glucoseabfall ein Blutzuckeranstieg bzw. eine Abnahme der Verschwinderate durch Hemmung der peripheren Glucoseutilisation nachweisen (82). Dennoch kann hGH nicht als primär diabetogener Faktor angesehen werden, da normalerweise die Glucosetoleranz durch erhöhte Insulinausschüttung aufrechterhalten wird (49).

Die lipolytische Wirkung von hGH zeigt sich 1 - 4 Stunden nach Hormonzufuhr in einem Anstieg der FFA-Spiegel, der sich durch gleichzeitige Gabe von Glucose oder Insulin abschwächen läßt (61). Umgekehrt wird die hGH-Sekretion durch akute Erhöhung der NFS-Konzentration gehemmt (15).

Akromegalie

1886 wurde von PIERRE MARIE ein Krankheitsbild beschrieben, das er wegen des Leitsymptoms, einer Vergrößerung der Akren, Akromegalie nannte (51).

Die Erkrankung ist Folge einer pathologisch gesteigerten Sekretion von hGH im Erwachsenenalter, die fast immer durch ein Hypophysenadenom verursacht wird. In einzelnen Fällen wird eine ektoptische hGH-Produktion als Ursache der Akromegalie beschrieben (17). Inwieweit hypothalamische Fehlsteuerungen, z. B. Mehrse-

kretion von GRF oder Mindersekretion von GRIH, an der Entstehung einer Akromegalie beteiligt sind, ist noch unklar (18).

Die klinischen Symptome der Krankheit sind zum einen das Ergebnis der chronischen Mehrsekretion von hGH, zum anderen Folge des fortschreitenden Tumorwachstums. Es kommt in der Regel zu einer Sellavergrößerung, neben Kopfschmerzen treten häufig Sehstörungen mit Gesichtsfeldausfällen durch Kompression des chiasma opticum auf. Das Tumorwachstum führt zu endokrinen Ausfällen, am häufigsten wird die Gonadotropinsekretion beeinträchtigt, die Folge sind Libido- und Potenzverlust sowie Amenorrhoe. In fortgeschrittenem Stadium kommt es auch zu Störungen der ACTH-Sekretion mit sekundärer Nebennierenrindeninsuffizienz und der TSH-Sekretion mit sekundärer Hypothyreose. Die übermäßige hGH-Sekretion bewirkt eine Steigerung des enchondralen wie des periostalen Knochenwachstums mit Zunahme des Längenwachstums beim Jugendlichen (hypophysärer Gigantismus) bzw. des appositionellen Wachstums nach Epiphysenschluß - Ursache der charakteristischen Akrenvergrößerung. Häufiger bei Männern als bei Frauen findet man eine akromegale Arthropathie. Im Rahmen einer allgemeinen Viszeromegalie kommt es selten zu einer Kardiomegalie (Linkshypertrophie, Angina pectoris, Rhythmusstörungen) und Hepatomegalie, Karpaltunnelsyndrom durch Verdickung des ligamentum transversum und Kompression des Nervus medianus, Hautverdickung mit Hyperhidrosis und vermehrtem Haarwuchs. Sehr häufig ist eine blande Struma. Bei der Hälfte der Patienten besteht ein Hypertonus mit systolischen Werten über 155 mm Hg und diastolischen Werten über 95 mm Hg. In einem Viertel der Fälle wird ein endokrines Psychosyndrom mit Antriebsarmut und depressiver Verstimmung beobachtet. In 70 % der Fälle ist, bedingt durch den Insulinantagonismus von hGH, ein subklinischer Diabetes mellitus mit verminderter Glucosetoleranz nachweisbar. Ein weiterer typischer Laborbefund ist der erhöhte Serumphosphor.

Beweisend für eine floride Akromegalie sind erhöhte, durch Glucose nicht supprimierbare Plasma-hGH-Spiegel.

Die Behandlung der Akromegalie, die eine Ausschaltung des Hormonexzesses zum Ziel hat, erfolgt operativ (transsphenoidale oder transfrontale Hypophysektomie, evtl. Kombination mit Kryotechnik, selektive Adenomentfernung) oder radiologisch (konventionelle Röntgenbestrahlung, Beschuß mit schweren Teilchen, Implantation radioaktiver Isotope). Versuche einer medikamentösen Therapie sind bisher fehlgeschlagen (44, 68).

Biologische Rhythmen der Hormonsekretion

Für die meisten der beim Menschen bekannten Hormone liegen Untersuchungen über ihre Sekretionsdynamik bei Messungen über 24 Stunden und über kürzere Zeitabschnitte vor. Ein tageszeitlicher Rhythmus der Hormonsekretion wurde zuerst für die Corticosteroide gefunden. Cortisol und entsprechend ACTH und der corticotropin releasing factor (CRF) zeigen einen Tagesrhythmus mit einem morgendlichen Sekretionsmaximum und einem Tiefpunkt am späten Abend (24, 43, 72).

In der Folge wurden auch bei anderen Hormonen solche circadianen Rhythmen gefunden, so für TSH (nächtliches Sekretionsmaximum) (2), FSH und Testosteron (21). Auch für hGH wurde kürzlich ein tageszeitlicher Rhythmus mit unterschiedlichem Ablauf bei Kindern, Jugendlichen und Erwachsenen beschrieben (60). Dagegen stellt der von mehreren Autoren gefundene sogenannte "hGH-Schlafpeak" keinen circadianen Rhythmus dar, sondern läßt sich auf den Beginn der Tiefschlafphase zurückführen und mit diesem parallel verschieben (1, 38, 62, 67).

Bei der Messung von Cortisolspiegeln in kurzen Zeitabständen von 20 Minuten zeigte sich, daß innerhalb des oben erwähnten circadianen Rhythmus kurze Sekretionsepisoden auftreten, die von Abschnitten sekretorischer Ruhe gefolgt sind, so daß ein sägezahnartiges Profil der Hormonspiegel entsteht (36, 80). Dieses als "episodische Sekretion" bezeichnete Phänomen wurde auch bei ACTH, LH, FSH, TSH und einigen der zugehörigen Zielscheibenhormone wie Testosteron und Oestradiol (1, 24, 55, 56, 80) sowie bei humanem Prolaktin (59) und Aldosteron (77) gefunden.

In der vorliegenden Arbeit soll anhand von Messungen der Hormonspiegel in kürzesten Zeitabständen untersucht werden, ob auch für menschliches Wachstumshormon eine episodische Sekretion nachweisbar ist und ob Unterschiede im Sekretionsmuster von Gesunden und Patienten mit pathologisch gesteigerter hGH-Sekretion bestehen.

2. METHODEN UND MATERIALIEN

2.1. Radioimmunologische hGH-Bestimmung

2.1.1. Prinzip und Darstellung der Eichkurve

Die radioimmunologische Bestimmung von Peptidhormonen wurde 1960 von YALOW und BERSON für die Messung von Insulin eingeführt (85) und 1962 von UTIGER et al. (76) später von SCHALCH et al. (69) und GLICK et al. (27) auf hGH übertragen.

Das Prinzip des Radioimmunoassays (RIA) beruht auf der Konkurrenz zwischen einem radioaktiv markierten und einem unmarkierten Hormon um die Bindungsstelle an einem spezifischen Antikörper. Die Reaktion unterliegt dem Massenwirkungsgesetz.



Markiertes Hormon wird reversibel an den Antikörper (AK) gebunden und kann von unmarkiertem Hormon quantitativ aus der Bindung verdrängt werden. Dabei wird das Verhältnis von antikörpergebundenem, markiertem Hormon ("bound"-Anteil) zu freiem, markiertem Hormon ("free-Anteil), die B/F-Ratio, mit steigender Menge an unmarkiertem Hormon immer kleiner. Bei konstanter Konzentration von markiertem Hormon und spezifischem Antikörper läßt sich mit bekannten Standardverdünnungen an unmarkiertem Hormon eine Eichkurve erstellen.

Zur Messung der B/F-Ratio muß jedoch zuerst freies Hormon von dem Antigen-Antikörper-Komplex abgetrennt werden. Dies kann auf verschiedenen Wegen geschehen (12). Heute verwendet man meist die sog. Doppelantikörpermethode, die von HALES u. RANDLE (33) für Insulin und von CERASI et al. für hGH (13) beschrieben wurde. Der Komplex wird dabei von einem zweiten Antikörper praezi-

pitiiert. Aus der im Gammacounter gemessenen Radioaktivität des Präzipitats läßt sich die B/F-Ratio berechnen.

YALOW u. BERSON verwendeten nun eine Darstellung der Eichkurve, bei der die B/F-Ratio als Funktion der hGH-Konzentration aufgetragen wird. Abszisse und Ordinate sind linear, es resultiert eine Hyperbel. Die Nachteile dieser Darstellung sind: 1. Die Kurve verläuft an keinem Punkt linear, 2. die B/F-Ratio ist instabil und man erhält 3. einen von Test zu Test schwankenden B_0 -Wert, d. i. die Radioaktivität derjenigen Probe, die nur markiertes, aber kein unmarkiertes Hormon enthält. Wir verwendeten deshalb den Quotienten B/B_0 und erreichten damit einen konstanten Anfangspunkt der Kurve mit $B/B_0 = 100\%$. Bei Einteilung der Abszisse nach dem dekadischen Logarithmus und Linearität der Ordinate ergibt sich ein sigmoidaler Kurvenverlauf mit einer langen Geraden in der Mitte. Wesentliche Erleichterung gewährt ein von MARSCHNER et al. (52) an unserer Klinik eingeführtes Verfahren zur Berechnung eines "stetigen, optimal geglätteten Kurvenzuges aus experimentellen Daten radioimmunologischer Standardkurven", das auf der "Spline-Approximation" beruht und wegen der komplizierten Rechenvorgänge eine EDV-Anlage nötig macht. Ein Großteil der in dieser Arbeit vorgenommenen Hormonbestimmungen wurde nach dieser exakten und zeitsparenden Methode durchgeführt.

2.1.2. Radioaktive Markierung des hGH

2.1.2.1. Prinzip

Zur radioaktiven Markierung von hGH werden die Isotopen ^{131}J und ^{125}J verwendet. ^{131}J hat Beta- und Gamma-Strahlung, eine hohe spezifische Aktivität des trägerfreien Isotops und eine Halbwertszeit von 8,09 Tagen. Wegen dieser kurzen Halbwertszeit verwendeten wir ^{125}J , das bei einer spezifischen Aktivität von 8 - 15 Ci $^{125}\text{J}/\text{mg J}$ eine Halbwertszeit von 60 Tagen aufweist.

Die Markierung wurde nach der von GREENWOOD et al. (32) beschriebenen Methode durchgeführt. Jodidionen werden mit Chloramin T zu elementarem Jod oxidiert, welches in die Tyrosinreste des hGH-Moleküls eingebaut wird. Die Reaktion wird durch Natriummetabisulfit gestoppt, welches das restliche freie Jod wieder zu Jodid reduziert. Kaliumjodid soll als Trägerjodid eine unspezifische Adsorption an die Wand des Reaktionsgefäßes verhindern. Markiertes Hormon und freies, nicht in die Reaktion eingegangenes Jodid werden dann gelchromatographisch getrennt.

Das ^{125}J des von uns anfangs verwendeten Sorin-Kits (siehe S.15) wurde nach einer von U. ROSA entwickelten, elektrolytischen Markierungsmethode hergestellt (64).

2.1.2.2. Reagenzien und Geräte

1. ^{125}J -Natriumjodid zur Eiweißmarkierung ohne Reduktionsmittel, spez. Aktivität 8 - 15 $^{125}\text{J}/\text{mg J}$
2. Menschliches Wachstumshormon (= hGH), Wilhelmi-Präparation NIH-GH: HS/394 mit einer biolog. hGH-Aktivität von 2 I.E./mg und Prolaktin-Aktivität von 6 I.E./mg (National Institut of Health)
3. Serumalbumin vom Rind, trocken, reinst, elektrophoretischer Reinheitsgrad 100 % (Behring, Best. Nr. ORHD)
4. Chloramin T, MG 281,69 (Reagenzien Merck Nr. 2426)
5. Natriummetabisulfit, trocken, MG 190,1 (Reagenzien Merck, Nr. 6528)
6. Kaliumjodid, neutral, MG 166,01 (Reagenzien Merck, Nr. 5043)
7. 5,5-Diäthylbarbitursäurenatriumsalz zur Analyse MG 206,18 (Reagenzien Merck, Nr. 6318)
8. Di-Natriumhydrogenphosphat-Hydrat zur Analyse, MG 177,99 (Reagenzien Merck, Nr. 6580)

9. Kaliumdihydrogenphosphat nach Sörensen, MG 136,09 (Reagenzien Merck, Nr. 4873)
10. 5 N Salzsäure
11. 2 N Natronlauge (Reagenzien Merck, Nr. 4873)
12. Sephadex G-50 Fine (Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala, Schweden, Lot. Nr. 127, Particle Size 20 - 80 μ)
13. Fraktionssammler
14. Vortex-Mixer (Bender & Hobein AG, Zürich)

Angesetzte Puffer und Lösungen:

1. 0,5 M Phosphatpufferstammlösung nach Sörensen
 KH_2PO_4 : 6,81 g auf 100 ml H_2O
 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: 44,5 g auf 500 ml H_2O
 Unter pH-Kontrolle zusammengießen, bis pH 7,5 erreicht ist.
2. Daraus durch 1 : 10-Verdünnung 0,05 M Phosphatpuffer
3. 0,1 M Na-Veronalpuffer, pH 8,6
 20 g Barbital-Natrium auf 1000 ml aqua bidest. pH 8,6 wird mit 5 N Salzsäure eingestellt.
4. 0,07 M Veronalpuffer
 7 Volumina 0,1 M Na-Veronalpuffer auf 3 Volumina H_2O
5. 5 %-Rinderalbumin-Veronalpuffergemisch zur Sättigung der Sephadex-Säule.
6. 20 %-Rinderalbumin-Veronalpuffergemisch zur Vorgabe in die Sammelröhrchen des Fraktionssammlers.
7. hGH, reinst, wird mit 0,05 M Phosphatpuffer auf 2 $\mu\text{g}/10 \mu\text{l}$ verdünnt und in 50 μl Fraktionen abgeteilt

8. Chloramin T-Lösung

50 mg Chloramin T auf 10 ml 0,05 M Phosphatpuffer.

Die Lösung wird erst kurz vor Gebrauch angesetzt und in einem lichtundurchlässigen Behälter aufbewahrt.

9. Natriummetabisulfit-Lösung

20 mg Natriummetabisulfit auf 10 ml 0,05 M Phosphatpuffer.

10. Kaliumjodid-Lösung

50 mg KJ auf 5 ml 0,05 M Phosphatpuffer

2.1.2.3. Vorbereitung der Sephadex G-50 Säule

1. 2,5 g Sephadex G-50 Fine in 150 ml 0,07 M Na-Veronalpuffer einrühren und mindestens drei Stunden quellen lassen.

2. Säulenglasrohr (30 x 1 cm, mit Graduierung) reinigen, mit der Wasserstrahlpumpe trocknen und mit Äther von Fett befreien. Nach dem Trocknen wird der Ausfluß des Rohres mit etwas Glaswatte abgedichtet und darauf eine Schicht Glasperlen gegeben. Die Abdichtung darf nicht zu fest sein, da sonst die Durchflußgeschwindigkeit der Säule zu gering wird.

3. Glasrohr lotrecht befestigen, mit Na-Veronalpuffer vorspülen, gequollenes Gel eingießen und mindestens zwei Stunden sich absetzen lassen, dann nachwaschen mit 10 ml 0,07 M Na-Veronalpuffer.

4. Wenn die Oberfläche trocken ist, läßt man 2 ml der 5 % Albumin-Pufferlösung einziehen, wäscht mit 20 ml 0,07 M Na-Veronalpuffer nach und beläßt etwa 2 ml Überstand. Dieses Absättigen der unspezifischen Proteinbindungsstellen des Sephadexgels erlaubt eine hohe Wiederfinderate des markierten Hormons.

5. Das Eluat wird mit einem Fraktionssammler in dreißig 1 ml-Faktionen aufgefangen. In die Eppendorf-Sammelröhrchen werden 20 µl einer 20 % Albuminlösung vorgegeben.

2.1.2.4. Jodierung

In ein konisches Glasröhrchen werden nacheinander einpipettiert:

- 20 μ l ^{125}J -Lösung (entspricht 500 μC)
- 20 μ l 0,5 M Phosphatpuffer
- 20 μ l hGH-Lösung (entspricht 4 μg)
- 20 μ l Chloramin-T Lösung

Das Gemisch wird 25 - 30 Sekunden auf einem Vortex-Mischer geschüttelt, dann wird zugegeben:

100 μ l Natriummetasulfit-Lösung, zum Stoppen der Reaktion,
 200 μ l Kaliumjodid-Lösung, neutral, als Trägerjodid. Nach kurzem Schütteln wird dieses Reaktionsgemisch mit einer Glaskapillarpipette vollständig auf die Sephadexsäule übertragen. Das Reagenzgefäß wird nochmals mit 200 μ l KJ-Lösung und 200 μ l Puffer nachgespült, diese Waschlösung wird gleichfalls auf die Säule gegeben.

Durch die Elution über die Sephadex-Säule werden das markierte Proteohormon und das nicht in die Reaktion eingegangene, freie Jodid getrennt. Eluiert wird mit 0,07 M Veronalpuffer. Je 1 ml des Eluats wird in 30 Eppendorf-Plastikröhrchen aufgefangen. In Röhrchen 4 - 30 wurden 20 μ l einer 20 % Albuminlösung vorgegeben, die endgültige Proteinkonzentration beträgt damit 0,4 %.

Das Elutionsprofil zeigt zwei Gipfel. Der erste Peak enthält das markierte Hormon ("Proteinpeak"), der zweite das freie Markierungsjodid und das Trägerjodid ("Salzpeak").

2.1.2.5. Nachreinigung

Während der Markierung entstehen durch den Oxidationsvorgang, die Jodsubstitution und radioaktive Strahlung Degradationsprodukte des hGH mit veränderten chemischen und immunologischen Eigenschaften (7). Um möglichst reinen Tracer zu erhalten, wurde deshalb der Proteinpeak der Sephadex-G-50 Säule auf einer

Sephadex-G-75-Säule rechromatographiert. Das Elutionsprofil zeigt Abb. 1.

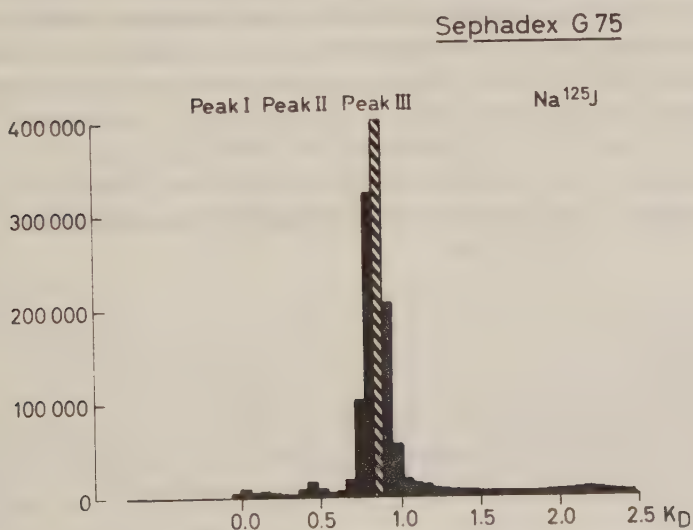
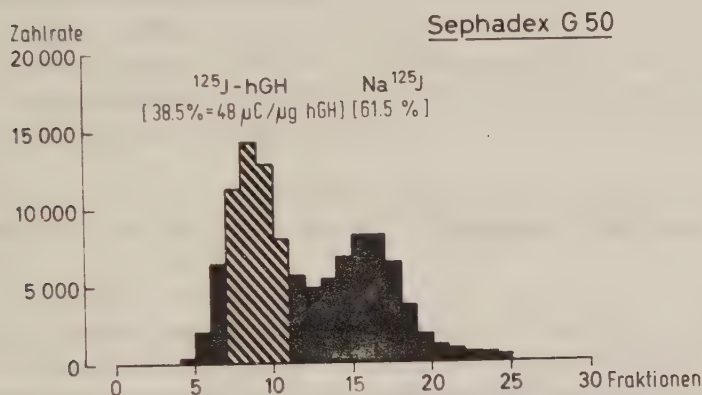


Abb. 1

Elutionsprofil des $^{125}\text{J-hGH}$ -Markierungsgemisches.
Trennung des ^{125}J markierten Proteins und $\text{Na } ^{125}\text{J}$ durch Sephadex G-50 Chromatographie (oben). Nachreinigung des Proteinpeaks (schraffiert) über Sephadex G-75. Peak III stellt das ^{125}J -markierte hGH dar, das bei K_D 0.8 eluierte (unten). Die schraffierte Fraktion diente als Tracer im hGH-RIA. Zählrate in Impulsen/min angegeben.

Der erste Peak enthält die Degradationsprodukte, das "damaged hormone", der zweite bei KD 0.45, markiertes sog. "big-hGH" (28, 83). Der dritte Peak (KD 0.8) repräsentiert das reguläre markierte hGH und wird als Tracer verwendet. Das Eluat wird mit 0,05 M Phosphatpuffer + 0,5 % Rinderalbumin auf eine Gebrauchskonzentration von 30 000 counts/2 min $\cdot$ 100 μ l verdünnt. Entsprechend dem im Assay verwendeten 1. Antikörper werden entweder Normalziegenserum 1 : 16 000 oder Normalkaninchenserum in einer Konzentration von 0,25 % als Copräzipitat zugegeben.

2.1.2.6. Spezifische Aktivität

Die spezifische Aktivität, d. h. die Menge an hormonegebundener Aktivität, ist ein Maß für die Güte der Markierung. Von der anfänglichen Gesamtaktivität des Reaktionsgemisches subtrahiert man die an Reaktionsgefäß und Pipette verbleibende Aktivität und erhält damit die Menge an Radioaktivität, die tatsächlich auf die Säule gebracht worden ist ("Säulenload"). Die im Gesamteluat gemessene Aktivität und der Säulenload sollten annähernd gleich sein. Der Anteil des Proteinpeaks an der Aktivität des Gesamteluats gibt an, mit wieviel Aktivität das Hormon markiert worden ist. Die spezifische Aktivität erhält man durch Einsetzen der Absolutwerte. Sie schwankte bei unseren Markierungen zwischen 15 und 50 μ C 125 J/ng hGH.

2.1.2.7. Meßgeräte

Zur Messung der Gammastrahlung verwendeten wir zwei Bohrlochkristallzähler, den Reagenzglaswechsler FHT 770 D der Fa. Friesecke & Höpfner GmbH, Erlangen, und den Gamma-Guard 150 der Fa. Tracerlab.

Diese Geräte arbeiten nach folgendem Prinzip:

Gammastrahlung regt einen NaJ-Kristall zur Szintillation an. Die dabei entstehenden Lichtblitze werden in elektrische Impulse umgewandelt und nach Verstärkung als counts/Zeit ausgedruckt.

Einstellung des Frieesecke FHT 770 D:

Eingangsempfindlichkeit 56 mV

Kanalbreite 50 %

Einstellung des Gamma-Guard 150:

High Voltage 460 V

Treshold 35 mV

Coarse Gain 64

Fine Gain 1,8

Die Messung der Markierungsproben erfolgte am digitalen Strahlungsmeßplatz Ms Str 610/1 der Fa. Telefunken.

2.1.3. Ansatzschema des hGH-RIA

Die hGH-Bestimmung wurde mit verschiedenen Antikörpersystemen durchgeführt. Anfangs verwendeten wir den hGH-Kit der Firma S.O.R.I.N. (Saluggia, Italien). Wegen der nur mäßigen Empfindlichkeit des S.O.R.I.N.-Kits wurden zwei weitere hGH-RIA-Systeme entwickelt.

2.1.3.1. hGH-RIA, S.O.R.I.N.

Reagenzien:

1. Borat-Puffer, pH 8,4 mit 0,5 % Rinderalbumin als Assay-Puffer. Mit diesem Puffer werden alle Serumproben verdünnt, normalerweise 1 : 6, bei Akromegalie oder Stimulation der hGH-Sekretion entsprechend höher (1 : 11,1 : 20). Die Standardverdünnungen erfolgen mit in diesem Puffer 1 : 6 verdünntem Rinderserum, um die Proteinkonzentrationen in Serum- und Standardproben anzugleichen.
2. hGH-Standard (hGH-Wilhelmi, S.O.R.I.N.), 20 ng, lyophilisiert.
3. Anti-hGH-Serum vom Meerschweinchen (1. AK), lyophilisiert.

4. Anti-Meerschweinchen-Gammaglobulin vom Kaninchen, (2. AK), lyophilisiert.
5. ^{125}J -hGH (Tracer), lyophilisiert.

Standardverdünnungsreihe zur Darstellung der Eichkurve:

20 ng hGH-Standard werden in 2 ml Rinderserum, das 1 : 6 mit aqua bidest. verdünnt ist, gelöst. Die sich ergebende Konzentration von 10 ng hGH/ml stellt den höchsten Punkt der Standardkurve dar und wird weiter verdünnt:

1 ml Rinderserum/Puffer	1 : 6	+	1 ml Standardverdünnung	= 5	ng/ml
1 ml	"	+	"	= 2,5	ng/ml
1 ml	"	+	"	= 1,25	ng/ml
1,5 ml	"	+	"	= 0,5	ng/ml
1 ml	"	+	"	= 0,25	ng/ml
1 ml	"	+	"	= 0,125	ng/ml

Tab. 1 Ansatzschema des hGH-RIA, S.O.R.I.N.

	Vorinkubation (30 h)				Tracer-Ink. (16h) 2. AK-Ink. (6h)	
	hGH- Stand.	Borat- Puff.	Rind. serum (1:6)	Pat. serum	1. AK ¹²⁵ J-hGH	2. AK
	ml	ml	ml	ml	ml	ml
T :	-	-	-	-	-	0,1
N :	-	0,1	0,1	-	-	0,1
Bo:	-	-	0,1	-	0,1	0,1
S :	0,1	-	-	-	0,1	0,1
P :	-	-	-	0,1	0,1	0,1

Erklärungen:

T = Gesamtaktivität (ca. 30 000 counts/2 min.)

N = Unspezifische Bindung, das Reaktionsgemisch enthält keinen spezifischen Antikörper. Durch Subtraktion des N-Wertes ergibt sich der genauere Quotient

$$\frac{B - N}{Bo - N}$$

Bo = Leerwert. Er zeigt die maximal mögliche Bindung von heißem Hormon an den spezifischen Antikörper bei Abwesenheit von kaltem Hormon.

S = Standardverdünnungen

P = Serumproben mit unbekanntem Gehalt an kaltem Hormon.

Von Bo werden 9fache, von allen anderen Proben normalerweise 3fache Bestimmungen durchgeführt; in der vorliegenden Arbeit wurden jedoch alle Seren 5fach gemessen, um größere Genauigkeit zu erzielen. Alle Pipettiervorgänge werden mit dem Probe-Reagenz-Dosierer 523 der Fa. Eppendorf, Hamburg vorgenommen; als Reaktionsgefäße verwenden wir Eppendorf-Kunststoffröhrchen.

Zunächst erfolgt eine 30stündige Vorinkubation bei Zimmertemperatur mit dem nicht markierten Hormon und dem 1. AK. Danach gibt man in alle Proben je 0,1 ml Tracer zu. Zusätzlich werden in 3 Reaktionsgefäße je 0,1 ml Tracer zur Messung der Gesamtaktivität pipettiert. Nach 16 Stunden Tracerinkubation erfolgt die Zu-

gabe von je 0,1 ml des präzipitierenden 2. AK und weitere 6 Stunden später die Abtrennung des Präzipitats durch Mikrofiltration über Zelluloseacetat-Filter nach Bottermann et al. (9). Die Radioaktivität der Filter wird im Gammacounter 2 min. lang gezählt.

Das Verfahren, den gebundenen Hormonanteil durch Zentrifugation und anschließendes Absaugen des Überstandes zu gewinnen, ergab größere Streubreiten innerhalb der Mehrfachbestimmung als die Filtration und wurde nicht weiter verwendet.

2.1.3.2. hGH-RIA mit Ziegenantikörper

Reagenzien:

1. 0,05 M Phosphatpuffer, pH 7,5 nach Sörensen mit 0,5 % Rinderalbumin
2. Standard: Creschormon^R, hGH-Präparation nach Roos, 2 mg, lyophilisiert
3. ¹²⁵J-hGH-Roos, eigene Markierung
4. Anti-hGH-Serum von der Ziege (Mann Research Laboratories N.Y., N.Y., Kat. Nr. 1435, wird mit Assaypuffer auf 1 : 50 000 verdünnt und in 10 ml-Fraktionen eingefroren. (1. AK)
5. Anti-Ziege-Gammaglobulin vom Kaninchen, Batch-Nr. 2284 x (Behringwerke Marburg/Lahn), wird auf 1 : 60 verdünnt in Assaypuffer unter Zugabe von 0,025 M EDTA.

Herstellung der Standardverdünnungen, Ansatzschema, Trennvorgang und Meßzeiten entsprechen dem hGH-RIA-S.O.R.I.N.

2.1.3.3. hGH-RIA mit Kaninchenantikörper

Reagenzien:

1. 0,05 M Phosphatpuffer, pH 7,5 nach Sörensen mit 0,5 % Rinderalbumin

2. Standard: Creschormon, (siehe oben)
3. ^{125}J -hGH-Roos, eigene Markierung
4. Anti-hGH-Serum vom Kaninchen, K 3, (von Werder). Der 1. AK wird in einer Verdünnung von 1 : 100 000 im Assay eingesetzt.
5. Anti-Kaninchen-Gammaglobulin vom Esel, Lot. Nr. K 8135 (Wellcome Research Laboratories, Beckenham, England). Der 2. AK wird 1 : 20 mit Assaypuffer + 0,01 M EDTA verdünnt.

Wegen der höheren Sensitivität des 1. AK beginnt die Standardkurve bei 4 ng hGH/ml und reicht bis 0,025 ng hGH/ml.

Das Ansatzschema entspricht dem der beiden vorherigen Assays. Nur die Inkubationszeiten sind länger und betragen bei 4° C für die Vorinkubation 4 Tage, nach Tracerzugabe 3 Tage und nach Zugabe des 2. AK 1 Tag. Die Trennung von gebundenem und freiem Hormon erfolgt wieder durch Filtration über Zellulose-Acetat-Filter.

2.1.3.4. Sensitivität, Spezifität und Qualitätskontrolle des hGH-RIA

Sensitivität

Die Sensitivität, d. i. diejenige kleinste Konzentration, die gerade noch als von 0 statistisch signifikant verschieden erfaßt werden kann, ist durch den Quotienten $\frac{\text{Bo}-\text{N}-3}{\text{Bo}-\text{N}} \cdot \frac{S_{\text{Bo}}}{S_{\text{Bo}}} \times 100 (\%)$ definiert. Dabei ist S_{Bo} die Standardabweichung vom Mittelwert des Leerwertes Bo. Der sich ergebende Prozentwert wird auf der Eichkurve abgelesen und ergibt die untere Nachweisgrenze des Assays. Diese betrug für den hGH-RIA-S.O.R.I.N. 0,5 ng/ml, entsprechend 50 pg im Ansatz, und für den empfindlicheren Ziegenantikörper-RIA 0,125 ng/ml, entsprechend 12,5 pg im Ansatz. Die größte Sensitivität zeigte der Kaninchen-Antikörper-RIA mit 0,025 ng/ml, bzw. 2,5 pg/Ansatz. (Abb. 2)

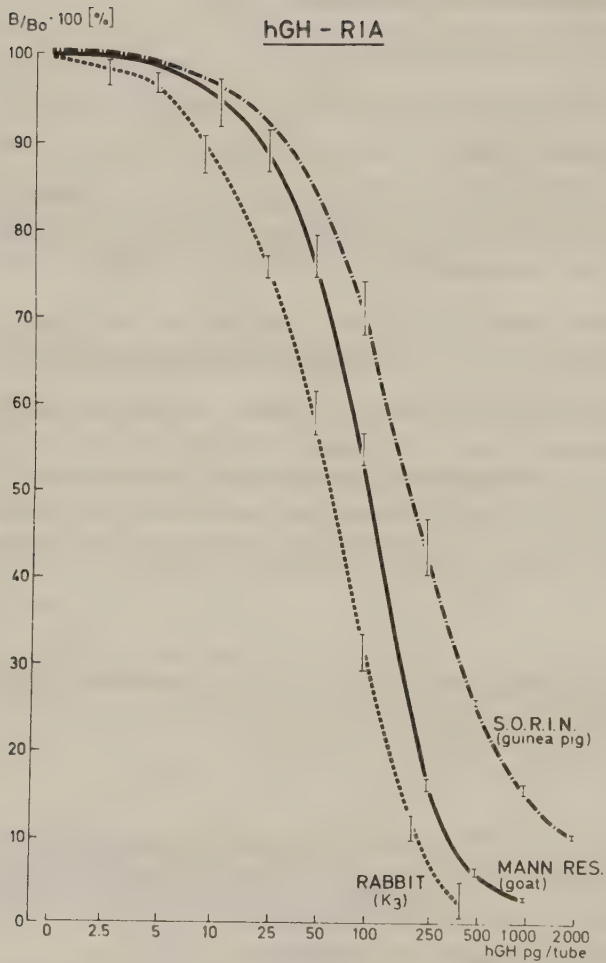


Abb. 2

hGH-RIA-Standardkurven.

Die hGH-Konzentration ist logarithmisch in pg/Ansatz aufgetragen (Abszisse), die Bindung in $B/Bo \times 100 (\%) \pm S$. Der empfindlichste Antikörper (AK) ist der Kaninchen-AK (K 3). Am wenigsten empfindlich ist das Meerschweinchen-Antiserum (S.O.R.I.N.), dessen Meßbereich entsprechend größer ist. Der Ziegenantikörper (Mann Res.) liegt hinsichtlich Empfindlichkeit und Meßbereich in der Mitte.

Spezifität

Die Spezifität eines Antikörpers ist umso größer, je weniger er mit anderen Hormonen eine Kreuzreaktion eingeht. Unter Kreuzreaktion versteht man nach KABAT (40) die serologische Verwandtschaft verschiedener Einzelantigene, die gleiche oder ähnliche Molekülstrukturen aufweisen und deshalb mit den Antikörpern gegen jedes andere dieser Antigene reagieren.

So ist wegen der großen Ähnlichkeit in biologischer Aktivität, Aminosäuresequenz und Immunoreaktivität eine Kreuzreaktion mit hPL (= human placental lactogen) zu erwarten (78), die auch für alle drei hGH-Antikörper gefunden wurde (81). Dagegen zeigten das dem hGH ebenfalls ähnliche Prolaktin (hPRL) und die mituntersuchten Hormone LH, FSH und TSH keine Kreuzreaktion mit unseren hGH-Antikörpern.

Qualitätskontrolle

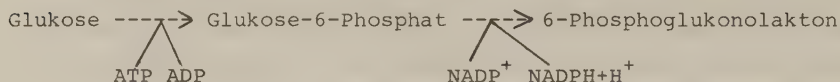
Als Maß für die Präzision einer Methode verwendet man den Variationskoeffizienten VK innerhalb eines Ansatzes (= "within-assay-VK"), als Maß für die Reproduzierbarkeit den VK von bei jedem Ansatz mitbestimmten Kontrollseren (= "between-assay" VK). Der VK berechnet sich aus dem Quotienten von Standardabweichung S und Mittelwert $\bar{x}$ einer n-fach bestimmten Probe:

$$VK = \frac{S}{\bar{x}} \times 100 (\%).$$

Für den in dieser Arbeit hauptsächlich verwendeten Ziegen-Antikörper lagen der within-assay-VK bei 5 %, der between-assay-VK bei 7 %.

2.2. Glukosebestimmung im Blut

Die Bestimmung der Blutglukose erfolgte enzymatisch nach der Hexokinasemethode. Prinzip:



Das entstandene $\text{NADPH} + \text{H}^+$ wird photometrisch nachgewiesen.

Materialien:

1. 0,33 N Perchlorsäure (Biochemica, Boehringer GmbH, Mannheim, Best. Nr. 15900)
2. Biochemica-Test-Kombination (Fa. Boehringer GmbH, Best. Nr. 15994 für ca. 100 Bestimmungen)

Die Testpackung enthält die Reagentien für das Reaktionsgemisch, das folgende Zusammensetzung hat:

- 26 Volumina 0,3 M Triäthanolaminpuffer pH 7,5 mit 4 mM Magnesiumsulfat
- 1 Volumen 12 mM NADP
- 1 Volumen 16 mM ATP
- 0,2 Volumina 1 mg Hexokinase/ml und 1 mg Glukose-6-Phosphatdehydrogenase/ml

3. Photometer Eppendorf mit Mikroküvette und Spalt 1 x 4
4. Eppendorf-Kunststoffgefäße
5. Zentrifuge

Durchführung:

0,05 ml Blut werden sofort nach Abnahme zur Enteiweißung mit 0,5 ml einer 0,33 N Perchlorsäure versetzt. Das Reaktionsgefäß

wird kräftig geschüttelt und anschließend 1 Minute lang zentrifugiert. Vom Überstand des enteweißten Blutes werden 0,05 ml mit 0,5 ml des Reaktionsgemisches in ein Eppendorfgefäß gegeben. Der "Leerwert" enthält 0,5 ml 0,33 N Perchlorsäure. Nach 20 Minuten ist die enzymatische Reaktion vollständig abgelaufen und das entstandene NADPH H kann durch Extinktionsmessung bei 366 nm bestimmt werden. Die Extinktion des "Leerwertes" muß jeweils von der der Blutprobe subtrahiert werden. Multiplikation des Differenzwertes mit 651 ergibt dann den Glukosespiegel in mg/100 ml Blut.

Bei jeder Messung wird ein Kontrollserum mitbestimmt.

2.3. Bestimmung der freien Fettsäuren (FFA) im Serum

Die nichtveresterten Fettsäuren wurden nach dem modifizierten Verfahren von DUNCOMBE (19) bestimmt. Dabei werden die FFA als Kupfersalze mit Chloroform extrahiert. Die Kupferseifen werden mit Diäthylthiocarbaminat in einen Kupferkomplex überführt und kolorimetrisch bestimmt.

Reagenzien:

1. Chloroform p.a. (Merck, Nr. 2445)
2. Kupfer-(2)-nitrat p.a. (Merck, Nr. 2755)
3. Triäthanolamin-Hydrochlorid, kristallisiert (Boehringer, Mannheim, Nr. 15325 HTAA)
4. Natriumdiäthylthiocarbaminat p.a. (Merck, Nr. 6689)
5. Butanol-2 (Merck, Nr. 9630)
6. Palmitinsäure p.a. (Serva, Heidelberg)
7. 1 N Essigsäure

Herstellung der Lösungen:

1. Kupferreagenz:

- a) 6,45 g Kupfer-II-nitrat gibt man in einen 100-ml Meßkolben, der bis zur Eichmarke mit aqua bidest. aufgefüllt wird.
- b) 18,57 g Triäthanol-Hydrochlorid werden in einen 100-ml Meßkolben gegeben und dieser mit aqua bidest. bis zur Eichmarke aufgefüllt.
- c) 9 Teile der Lösung b werden mit 1 Teil 1 N Essigsäure gemischt.
- d) Lösung a 1 : 1 mit Lösung c gemischt ergibt das Kupferreagenz.

2. 100 mg Natriumdiäthylthiocarbaminat werden in 100 ml Butanol-2 gelöst.

3. Palmitinstandard: 400 µval.

Stammlösung: 1 mM, 25,64 mg auf 100 ml Chloroform

Standardlösung: 4 ml der Stammlösung auf 100 ml Chloroform ergeben 40 µval/l Palmitinsäure. Da in die Reaktion die 10fache Standardmenge bezogen auf die Serummenge eingesetzt wird, muß in der Rechnung 400 µval eingesetzt werden.

Durchführung der Bestimmung:

1. 5 ml Chloroform werden in jedes Reagenzschliffglas einpipettiert. In das "Standard"-Reagenzglas werden 5 ml Palmitinstandard gegeben.
2. 2,5 ml Kupferreagenzlösung werden in jedes Reagenzglas gegeben.
3. 0,5 ml Serum werden in jedes Reagenzglas einpipettiert, außer in "Leerwert" und "Standard". Die Schliffgläser verschließt man dann mit lipoidunlöslichen Kunststoffstöpseln.

4. 30 Minuten Mischen der Proben in einer Schüttelmaschine.
5. Danach Umschütten aller Proben in spitze Zentrifugengläser und 15 Minuten Zentrifugation bei 5700 g. Es bilden sich zwei Phasen.
6. Mit einer Kunststoffkapillare, die an einer Wasserstrahlpumpe angeschlossen ist, werden die wäßrige Phase, die darunterliegende Eiweißschicht und die an der Wand haftenden Tropfen sorgfältig abgesaugt.
7. 3 ml des Chloroformrückstandes werden mit einer 3-ml-Auslaufpipette in ein Schliffglas überführt. Es ist sorgfältig darauf zu achten, daß die Pipette nicht mit Kupferrückständen in Berührung kommt.
8. 0,5 ml Natriumdiäthylthiocarbaminat werden in jedes Schliffglas einpipettiert und dieses sofort mit Glasstöpsel verschlossen. Unmittelbar vor der Messung werden die Gläser geschüttelt.
9. Die Messung erfolgt bei 436 nm im Eppendorffphotometer. Nullpunkteinstellung auf den Leerwert, Spalt 2,5 x 12, Durchlaufküvette.
10. Berechnung:

$$\text{FFA } \left(\frac{\text{mval}}{1} \right) = \text{Extinktion (Probe)} \times \frac{4}{\text{Extinktion (Standard)}}$$

Die Blutproben sollen gekühlt und schnell verarbeitet werden, hämolytische Seren werden falsch bestimmt.

2.4. Cortisolbestimmung

Die Serum-Corticosteroide wurden fluorimetrisch als 11-Hydroxy-Corticosteroide mit einer modifizierten Methode von MATTINGLY et al. (53) bestimmt (42).

2.5. Kontinuierliche Blutabnahme

Um einen Einblick in die Sekretionsdynamik von hGH zu gewinnen, haben wir versucht, Wachstumshormonspiegel in möglichst kurzen Zeitabständen peripher zu messen. Wir bedienten uns dabei der Methode der kontinuierlichen Blutabnahme, die, allerdings unter etwas anderer Zielsetzung, bereits von mehreren Autoren verwendet worden ist. (Siehe Einleitung)

Versuchsordnung:

Der Versuchsperson wurde eine Medicut-Plastikkanüle (Argyle-Medicut, Sherwood Medical Industries, Inc.) in die Vena cubitalis gelegt, und diese über das abgeschnittene Ende eines Infusionsbestecks und ein Gummistück mit dem Schlauch einer Ismatec-Präzisionspumpe verbunden. Schlauchkaliber und Pumpengeschwindigkeit waren so aufeinander abgestimmt, daß kontinuierlich 2 ml Blut/min aus der Vene abgesaugt werden konnten. Die Plastikkanüle mußte dabei sehr weit in die Vene vorgeschoben werden, weil das Gefäß sonst durch den Pumpensog kollabiert wäre. Das abgesaugte Blut wurde am Pumpenende fraktioniert für jeweils 1 Minute in spitzen 10-ml-Zentrifugengläsern aufgefangen, innerhalb 40 Minuten zentrifugiert und das gewonnene Serum bis zur Weiterverarbeitung tiefgefroren.

Um das System sicher durchgängig zu halten, injizierten wir über das Gummistück am Patientenende mit einer 18er Nadel alle 2 Minuten 0,2 ml Liquemin.

hGH-Bestimmung:

Bei IHT und Argininbelastung wie auch bei den Untersuchungen an Akromegalen vor und nach Operation wurden in allen gewonnenen Blutproben die hGH-Spiegel, wie unter 2.1.3. beschrieben, bestimmt. Die Seren wurden dabei innerhalb eines Tests in der gleichen Verdünnung eingesetzt. Um auch kleine Schwankungen der

hGH-Spiegel mit statistischer Signifikanz nachweisen zu können, bestimmten wir jede Probe fünffach.

Das Patientengut umfaßte 4 Kollektive: Zwei Gruppen mit Normalpersonen, d. h. normalgewichtigen, endokrinologisch unauffälligen Probanden ohne Herz-, Leber- und schwere Nierenerkrankungen, von denen die eine Gruppe ($n = 5$) einem Insulinhypoglykämietest (IHT), die andere ($n = 5$) einem Argininbelastungstest unterzogen wurde, eine Gruppe von Patienten mit einer floriden Akromegalie ($n = 7$) und schließlich 6 Akromegale, bei denen der Hormonexzess entweder durch eine erfolgreiche Operation oder von selbst ("ausgebrannte" Akromegalie) zum Stillstand gekommen war.

2.5.1. Kontinuierliche Blutentnahme während eines IHT

1963 konnten ROTH et al. zeigen, daß eine durch Insulinzufuhr hervorgerufene Hypoglykämie die hGH-Sekretion kräftig stimuliert (65, 66). Dabei genügt nach GLICK bereits eine Senkung des Glukosespiegels um 20 - 30 mg%, um eine signifikante Erhöhung der hGH-Serumspiegel zu erreichen, ohne daß Streß-Symptome auftreten (25). Der gleichzeitige Anstieg der Kortikosteroidspiegel nach Gabe von Insulin wird dagegen auf den Streß der Hypoglykämie zurückgeführt (8). Da der IHT es erlaubt, mit einem Test sowohl die hGH-Sekretion des HVL als auch die Achse HVL - NNR zu prüfen, wurde er bald zu einem standardisierten Test ausgebaut (31), der seit Jahren Eingang in die endokrinologische Routinediagnostik gefunden hat, und neuerdings durch die Beobachtung, daß während des IHT auch die Prolaktinsekretion stimuliert wird (46), noch an Bedeutung gewonnen hat. Wir führten den IHT durch, um bei Normalpersonen, deren hGH-Spiegel in der Regel an der unteren Nachweisgrenze liegen, die Sekretionsdynamik von hGH besser erfassen zu können.

Durchführung:

Der Test wurde morgens am nüchternen Probanden durchgeführt. Zunächst wurde die Vena cubitalis mit einer Medicut-Kanüle punktiert, 10 ml Blut zur Bestimmung der Basalwerte entnommen (= 1. Nüchtern-Wert, - 15 Min.), und dann, um die Kanüle offen zu halten, eine langsam tropfende Infusion mit physiologischer Kochsalzlösung angelegt. Nach 15 Minuten entnahmen wir eine zweite Blutprobe (= 2. Nüchtern-Wert, 0 Min.), unmittelbar darauf erfolgte die intravenöse Injektion von 0,15 - 0,20 I.E. Altinsulin pro Kilogramm Körpergewicht in die liegende Kanüle. Da mit einer ersten Reaktion auf die Insulingabe nach etwa 25 Minuten zu rechnen ist, wurde zu diesem Zeitpunkt eine weitere Blutprobe entnommen, dann sofort die Pumpe angeschlossen und während der nächsten 40 Minuten kontinuierlich Blut mit einer Flußrate von 2 ml/min abgesaugt und in 1-Minuten-Fractionen gesammelt. Danach entnahmen wir noch 3 Blutproben bei 65, 75 und 90 Minuten. Neben hGH, das in jeder Probe gemessen wurde, bestimmten wir die FFA und Cortisol bei -15, 0, 25, 65, 75, 90 Minuten nach den unter 2.3.0.0. bzw. 2.4.0.0. angegebenen Verfahren. Die Messung des Glukosespiegels erfolgte bei - 15, 0, 25 Minuten, dann alle 5 Minuten bis zur 65. Minute und schließlich bei 75 und 90 Minuten, wie unter 2.2.0.0. beschrieben. Dabei wurden aus der jeweiligen Blutprobe mit einem Kapillarröhrchen sofort 50 µl Blut entnommen und zur Enteiweißung in ein Eppendorfgefäß mit 500 µl Perchlorsäure gegeben.

Bei jedem IHT lagen zur Sicherheit zwei 20-ml-Spritzen mit 50 % Glukoselösung bereit.

2.5.2. Kontinuierliche Blutabnahme während eines Argininbelastungstests

Die intravenöse Verabreichung der Aminosäure Arginin führt zu einer signifikanten Sekretionssteigerung von Insulin und hGH (23, 54) und ist wie der IHT ein Routinetest zur Provokation der hGH-Sekretion. Die Probanden sollen dabei möglichst Idealgewicht

haben, da bei stark übergewichtigen Personen nur geringe hGH-Anstiege zu erwarten sind (14).

Durchführung:

Der Test wurde morgens am nüchternen Patienten durchgeführt. Wie beim IHT entnehmen wir nach dem Legen der Kanüle 2 Blutproben (- 15- und 0-Wert), unmittelbar nach Entnahme des 0-Wertes erhielt der Proband innerhalb von 30 Minuten eine Infusion von 500 ml 6 % Argininlösung (30 g Argininmonochlorid), dann entnehmen wir erneut Blut (Wert 30 Min.). Von der 35. bis 75. Minute nach Infusionsbeginn wurde die kontinuierliche Blutentnahme durchgeführt und schließlich noch bei 90 und 120 Minuten je eine Blutprobe entnommen. Blutzuckerbestimmung erfolgte aus den Proben - 15, 0, 30, 35, 45, 55, 65, 75, 90, 120, die hGH-Bestimmung aus allen Proben.

2.5.3. Kontinuierliche Blutabnahme bei Patienten mit Akromegalie

Bei den Patienten mit Akromegalie vor und nach operativer Behandlung führten wir jeweils eine 40minütige kontinuierliche Blutentnahme durch. Der Blutzuckerspiegel wurde dabei alle 5 Minuten bestimmt, hGH in jeder Probe.

3. ERGEBNISSE

3.1. Insulinhypoglykämie-Test (IHT)

Der IHT in Verbindung mit einer 40minütigen kontinuierlichen Blutentnahme wurde an fünf Normalpersonen, wie unter 2.5.2. beschrieben, durchgeführt. Das Ergebnis zeigen die Abb. 3, 4, 5, 6, 7 und Tab. 2.

Glucose:

Alle Probanden haben normale Nüchternblutzuckerwerte ($\bar{x}_{-15} \pm S = 100,6 \pm 11,4$ mg%). Nach Injektion von 0.15 - 0.20 IE Altinsulin/kg Körpergewicht kommt es in allen Fällen zu dem erwarteten Blutzuckerabfall, dessen Maximum 30 min. post injectionem erreicht ist und um 45 - 70 % unter dem Ausgangswert liegt ($\bar{x}_{30} \pm S = 39,3 \pm 16,2$ mg%). Danach steigt der Glucosespiegel in unterschiedlicher Geschwindigkeit wieder an. Es wurde also bei jedem Test eine beträchtliche Senkung der Blutzuckerspiegel und damit eine ausreichende Stimulation der hGH-Sekretion erreicht.

Freie Fettsäuren (FFA):

Der in der Literatur beschriebene Abfall der FFA-Spiegel in den ersten 25 min. nach Insulingabe (31) ist bei allen Tests, wenn auch in unterschiedlicher Stärke nachweisbar. ($\bar{x}_{-15} \pm S = 522 \pm 256$ μ val/l, $\bar{x}_{25} \pm S = 210 \pm 42,7$ mval/l).

Cortisol:

Der durch den Streß der Hypoglykämie induzierte Anstieg der Cortisolspiegel ist in vier der fünf Versuche nachweisbar. Die Werte liegen dabei 65 min. nach Insulingabe um durchschnittlich 58 % höher als die Nüchternspiegel. In einem Fall (F. K.) fällt der

Cortisolspiegel von einem erhöhten Nüchternwert kontinuierlich ab, obwohl eine ausreichende Hypoglykämie erzielt worden ist.

hGH:

Die hGH-Spiegel liegen zunächst bei allen Probanden unter der unteren Nachweisgrenze, ausgenommen bei G. B., wo zu Beginn des Tests hGH-Werte um 5 ng/ml nachweisbar sind, die aber dann unter die Nachweisgrenze abfallen.

Zwischen der 35. und 42. Minute nach Insulingabe erfolgt bei allen Versuchen ein signifikanter, hypoglykämiebedingter Anstieg der hGH-Spiegel, dessen Maximum zwischen der 55. und 63. Minute erreicht ist. Dabei divergieren die maximal erreichten hGH-Werte von 12 ng/ml - 72 ng/ml mit einem mittleren Maximalanstieg auf 42 ng/ml. Diese unterschiedliche Reaktion der hGH-Sekretion auf Hypoglykämie ist immer wieder, auch bei Wiederholung des Tests am gleichen Patienten, beobachtet worden (1).

Allen Tests gemeinsam ist jedoch ein Phänomen, das erst durch die kontinuierliche Blutentnahme während der Anstiegsphase zu Tage tritt: Die hGH-Spiegel steigen nicht kontinuierlich an, vielmehr finden sich jeweils mehrere Phasen, während denen über mehrere Minuten keine weitere Zunahme der hGH-Werte stattfindet bzw. es sogar zu einem signifikanten Absinken kommt. So steigen die hGH-Spiegel bei H. F. (Abb. 4) zunächst von der 31. - 43. Minute kontinuierlich auf 41 ng/ml an, fallen dann signifikant auf 35 ng/ml ab und steigen bis zur 48. Minute erneut auf 45 ng/ml. Es folgt eine Phase von 4 Minuten, während der keine Änderung des hGH-Wertes eintritt, ein erneuter Peak auf 57 ng/ml, innerhalb 2 Minuten ein signifikantes Absinken auf 47 ng/ml, in den nächsten 3 Minuten ein Anstieg auf 63 ng/ml, ein kurzer Abfall und ein letzter Anstieg auf 72 ng/ml, dem sich die endgültige Abwärtsbewegung anschließt.

Ähnliche Verhältnisse zeigt die Kurve G. B. (Abb. 5). Auch hier wird der zunächst kontinuierliche Hormonanstieg in der 43. Minute unterbrochen, in den nächsten drei Minuten liegen alle Wer-

te signifikant niedriger, es folgt ein weiterer Anstieg, Abfall usw. Bei den anderen Probanden findet man, allerdings zum Teil weniger deutlich, die gleichen Charakteristika des Kurvenverlaufs.

Wir glauben, daß diese raschen Schwankungen des hGH-Spiegels darauf zurückzuführen sind, daß Wachstumshormon vom Hypophysenvorderlappen nicht kontinuierlich, sondern stoßweise in kurzen Episoden sezerniert wird, denen Sekretionspausen folgen.

Betrachtet man die Kurve H. F. (Abb. 4) unter diesem Gesichtspunkt, so lassen sich mindestens fünf kurze Phasen sekretorischer Aktivität erkennen, und zwar zwischen der 31. - 43., der 47. - 49., der 50. - 52., der 54. - 57. und der 59. - 61. Minute, die je jeweils von Abschnitten sekretorischer Ruhe gefolgt sind.

Tab. 2 Insulinhypoglykämietest: Verhalten von Glucose, freien Fettsäuren und Cortisol

Zeit (min.)		H. F.	G. B.	E. S.	G. A.	F. K.	$\bar{x}$	S
Glucose (mg%)	- 15	110,0	111,9	83,4	97,6	100,2	100,6	11,4
	0	117,8	111,9	80,0	107,4	73,8	98,2	21,2
	25	54,0	62,4	29,0	44,9	57,2	49,5	13,1
	30	32,5	65,1	20,8	39,0	39,0	39,3	16,2
	35	33,8	69,6	33,9	56,6	45,5	47,9	15,4
	40	33,8	74,8	40,9	54,0	53,4	51,3	15,6
	45	53,4	82,0	46,3	60,5	61,8	60,8	13,4
	55	59,2	96,3	52,8	80,0	61,8	70,0	17,8
	65	72,2	99,6	63,9	74,8	72,9	76,7	13,5
	75	67,4	102,8	66,5	84,6	81,3	80,5	14,8
	90	-	106,1	76,8	93,0	75,5	87,8	14,5
FFA (μ val/l)	- 15	283	834	752	438	303	522	256,0
	0	265	751	281	617	365	456	216,9
	25	191	260	251	183	165	210	42,7
	65	321	548	261	412	208	350	134,1
	75	345	478	307	438	193	352	112,5
	90	-	674	347	586	211	454	213,1
Cortisol (μ g%)	- 15	19	16	17	13	33	19,6	7,8
	0	16	18	12	11	26	16,6	6,0
	25	15	13	9	12	21	14,0	4,5
	65	30	25	21	27	20	22,6	7,4
	75	33	20	18	27	19	23,4	6,4
	90	-	18	15	26	16	18,7	4,9

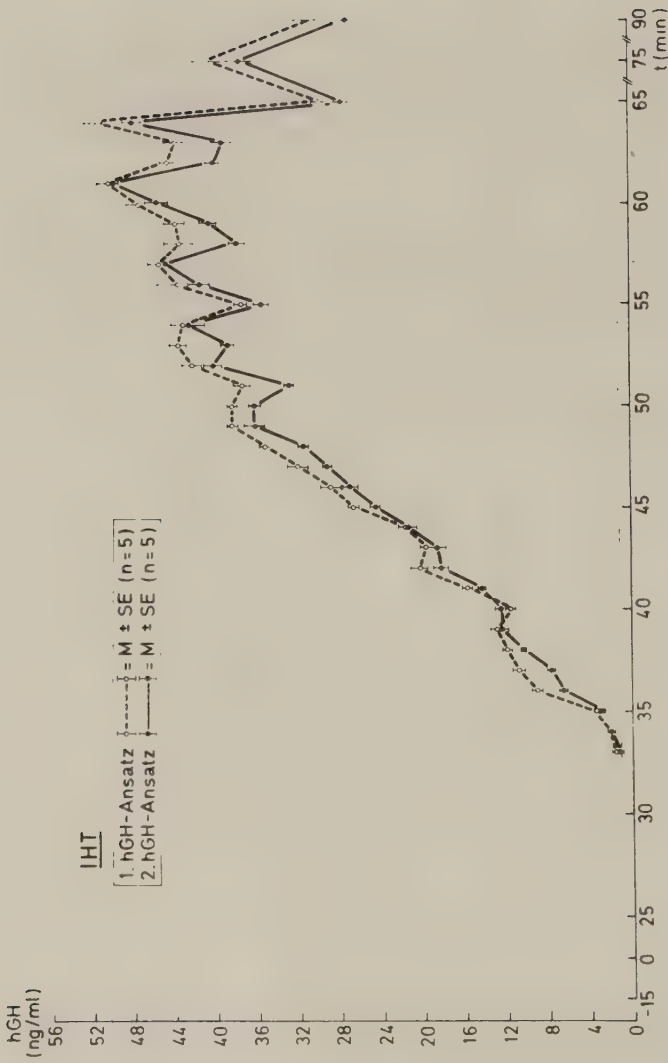


Abb. 3 Insulinhypoglykämietest, Proband E. S.

Zur Überprüfung der Messgenauigkeit wurden alle Proben in zwei getrennten Ansätzen jeweils fünfmal bestimmt.

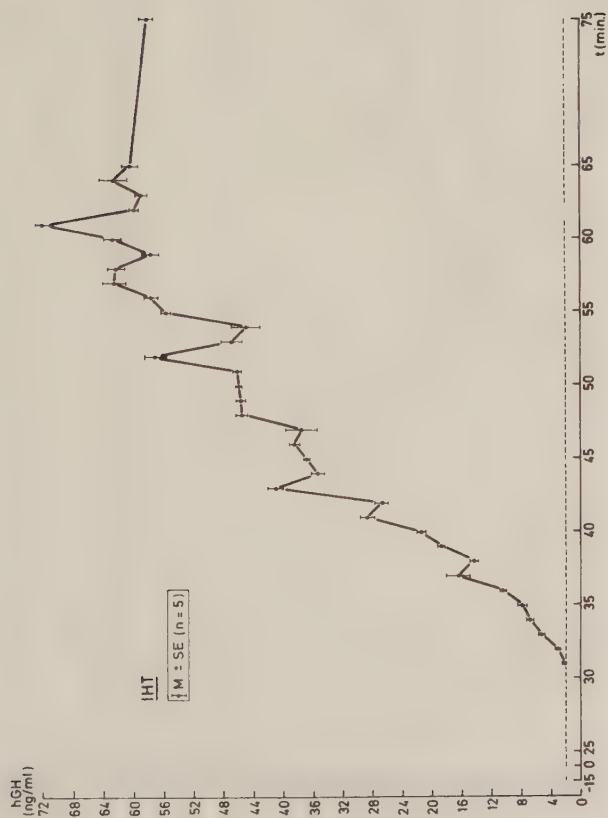


Abb. 4 Insulinhypoglykämietest, Proband H. F.

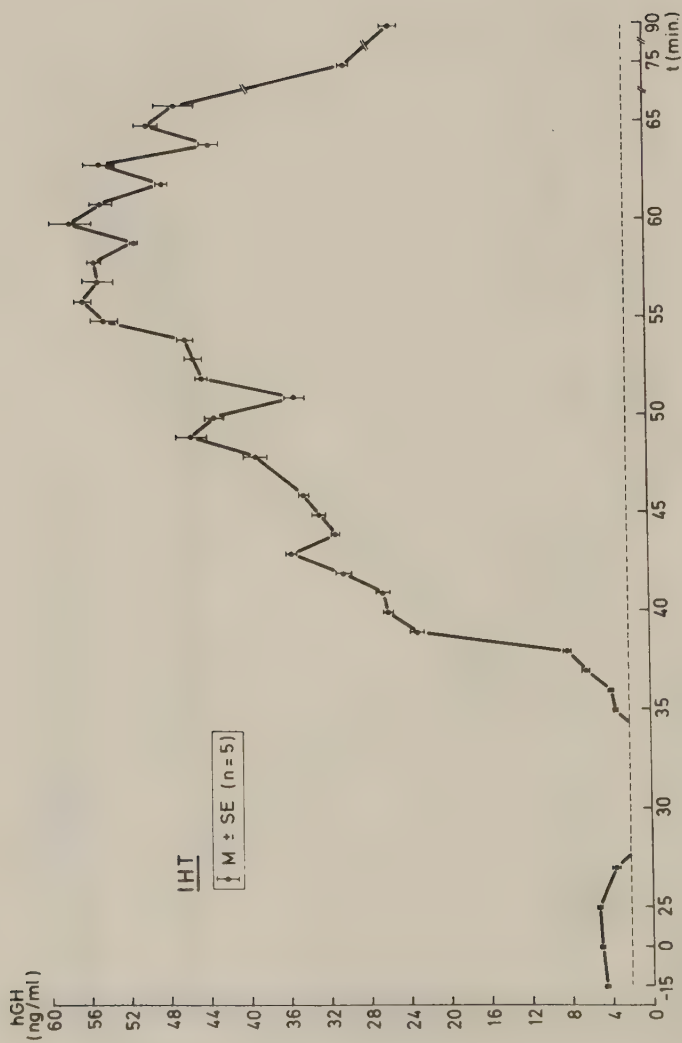


Abb. 5 Insulinhypoglykämietest, Proband G. B.

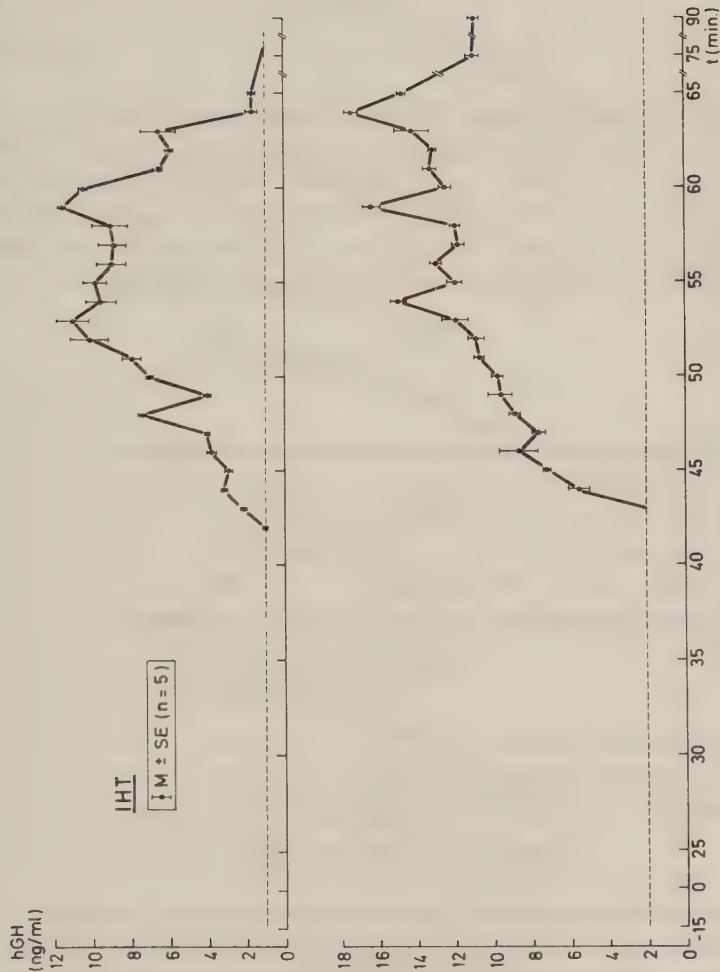


Abb. 6 Insulinhypoglykämietest, oben Proband G. A., unten Proband F. K.

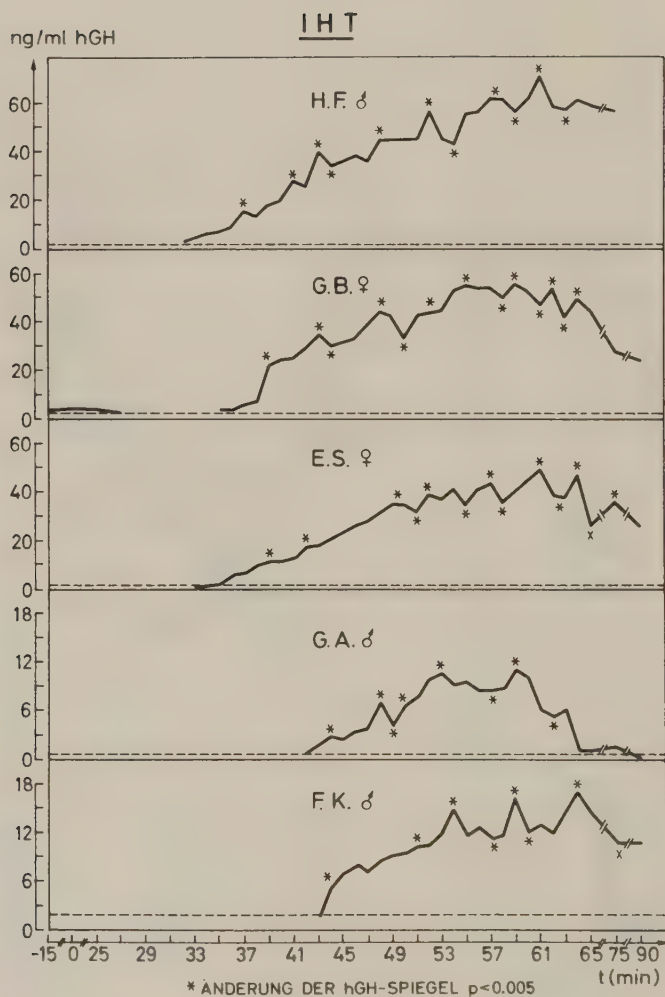


Abb. 7 Kurzfristige, phasenhafte hGH-Sekretion während eines Insulinhypoglykämietests. Fluktuationen mit einer Signifikanz von $p < 0,005$ sind mit einem Stern gekennzeichnet.

3.2. Argininbelastungstest

Fünf Normalpersonen wurden, wie unter 2.5.3.0. beschrieben, einem Argininbelastungstest mit kontinuierlicher Blutentnahme unterzogen. Das Ergebnis zeigen die Abb. 8, 9, 10, 11, 12 sowie Tab. 3.

Glucose:

Bei allen Probanden liegen die Nüchternblutzuckerwerte im Normbereich ($\bar{x}_{15}$, $\pm S = 98,4 \pm 6,5$ mg%). Im Testverlauf zeigt der Blutzucker nur bei drei Probanden das in der Literatur beschriebene, biphasische Verhalten mit einem frühen, hyperglykämischen Abschnitt während der Argininapplikation und einem sekundären Glucoseabfall (54).

hGH:

Die Nüchtern-hGH-Spiegel liegen wieder bei allen Probanden unter der Nachweisgrenze. Sofort nach Beendigung der intravenösen Applikation von Arginin (0. - 30. min.) ist ein Ansteigen der hGH-Spiegel zu verzeichnen, dessen Maximum zwischen der 40. und der 50. min. erreicht ist. Wie bei den IHT ist die Reaktion der hGH-Sekretion auf die Stimulation sehr unterschiedlich, die jeweiligen Maximalwerte schwanken zwischen 7,5 ng/ml (M. R.) und 112 ng/ml (E. Z.) mit einem Mittelwert von 66,5 ng/ml.

Bei allen Tests zeigt sich jedoch, in Übereinstimmung mit den bei den IHT erhobenen Befunden, während der Phase der kontinuierlichen Blutentnahme, daß hGH offenbar nicht gleichmäßig vom HVL sezerniert wird. So fällt z. B. bei E. Z. (Abb. 8) nach einem ersten Anstieg auf 58 ng/ml der hGH-Spiegel auf 44 ng/ml ab, ehe in der 39. Minute ein Wert von 81 ng/ml erreicht wird. Im nächsten Abschnitt (39. - 50. Minute) wird die episodische Sekretionsweise des HVL besonders deutlich: dem 3minütigen Abfall auf 58 ng/ml (das entspricht einer Änderung des hGH-Spiegels um 30 %) folgt ein 8minütiger, treppenförmiger Anstieg auf über

90 ng/ml, dem sich sofort wieder ein steiler Abfall bis unter 60 ng/ml anschließt. Auch das weitere Absinken der hGH-Spiegel im Rahmen der nachlassenden Stimulation verläuft nicht kontinuierlich, vielmehr treten mehrere Plateaus von 3 - 4 Minuten Dauer mit nahezu gleichbleibendem hGH-Level auf, die wir, im Gegensatz zu den Plateaus in der Anstiegsphase, als Ausdruck einer gerade abgelaufenen sekretorischen Episode interpretieren.

In prinzipiell ähnlicher Form verlaufen die Kurven auch bei den übrigen Tests, das sägezahnartige Muster tritt auch dann auf, wenn, wie im Fall M. K. (Abb. 11), die Argininzufuhr nur zu einer insgesamt mäßigen Stimulation der hGH-Sekretion geführt hat.

Tab. 3 Argininbelastungstest: Verhalten der Clugosespiegel

Zeit (min.)	E. Z.	M. S.	B. P.	M. K.	M. R.	$\bar{x}$	S
- 15	108,6	101,6	91,7	94,4	95,6	98,4	6,5
0	99,6	104,2	90,4	93,7	85,9	94,2	6,5
30	112,6	111,9	117,1	98,9	124,9	112,8	9,4
35	109,4	143,2	123,7	90,4	124,9	113,0	19,0
45	115,9	132,2	109,3	90,4	118,4	113,0	13,6
65	112,0	111,2	93,7	85,0	106,7	101,5	11,8
75	114,0	95,0	86,5	76,8	92,4	92,6	13,6
90	107,6	100,4	78,1	74,2	70,7	85,8	16,6
120	102,2	133,4	72,9	86,6	85,2	96,0	23,3

ARGININ-BELASTUNG

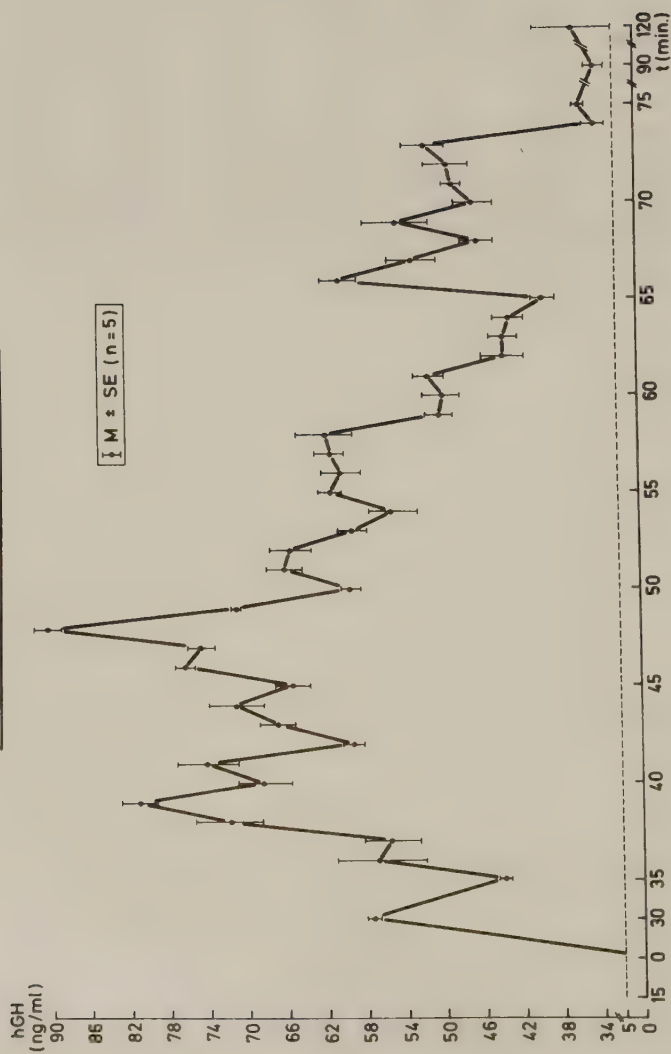


Abb. 8 Argininbelastung, Proband E. Z.

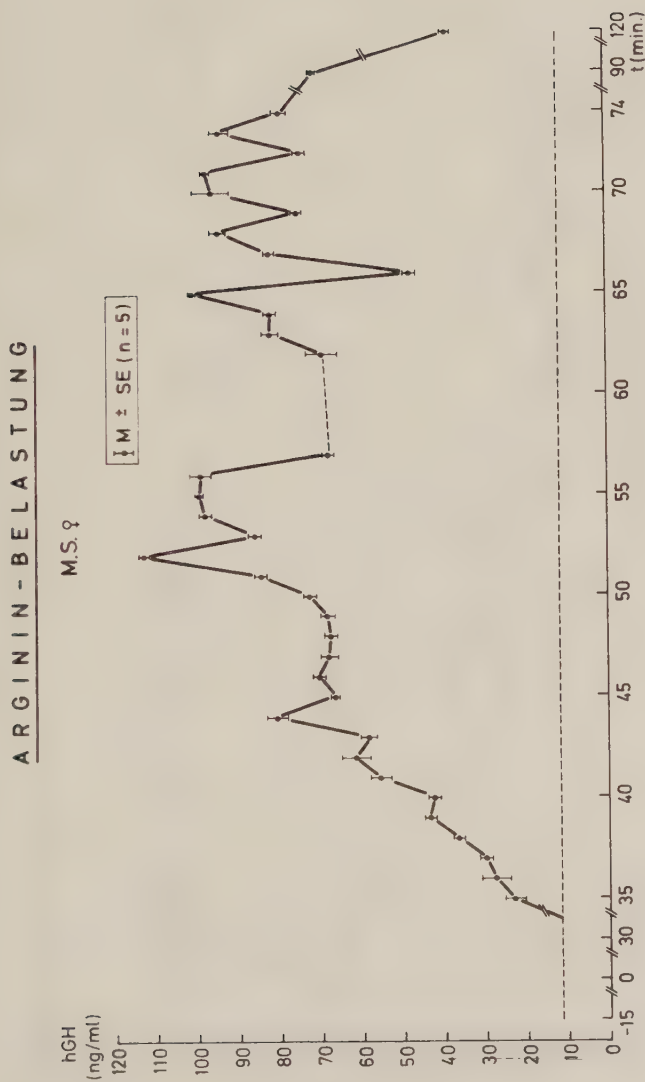


Abb. 9 Argininbelastung, Proband M. S.

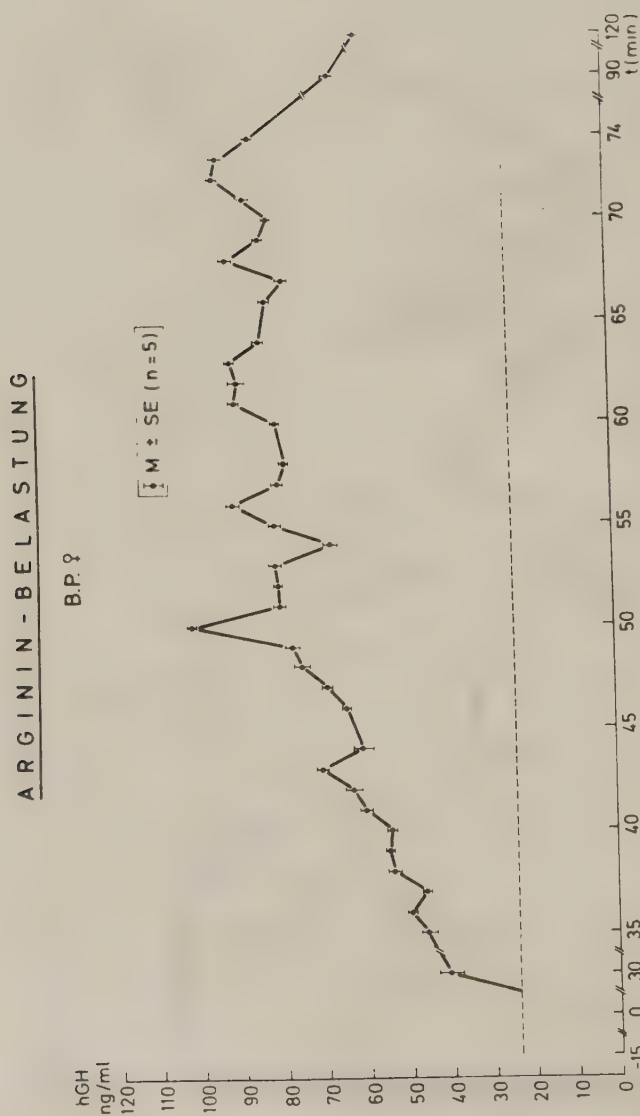


Abb. 10 Argininbelastung, Proband B. P.

ARGININ-BELASTUNG

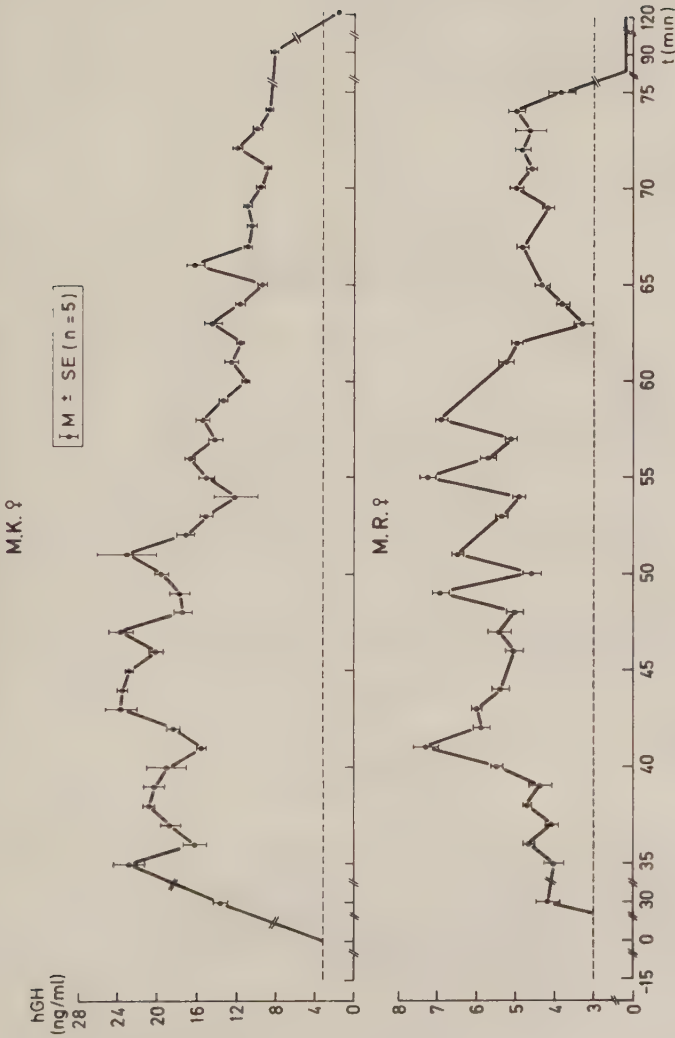


Abb. 11 Argininbelastung, oben Proband M. K., unten Proband M. R.

In beiden Fällen wurde nur eine mäßige Stimulation der hGH-Sekretion erreicht, dennoch rasche, phasenhafte, signifikante Fluktuationen der hGH-Spiegel.

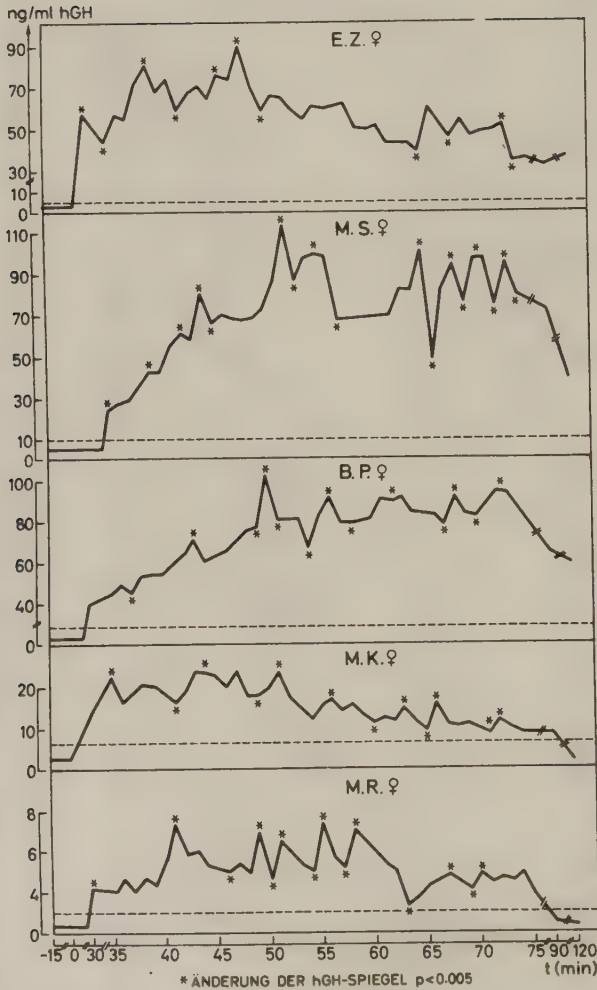
ARGININ-BELASTUNG

Abb. 12 Kurzfristige, phasenhafte hGH-Sekretion während einer Argininbelastung. Fluktuationen mit einer Signifikanz von $p < 0.005$ sind mit Stern gekennzeichnet.

3.3. Aktive Akromegalie

Bei 7 Patienten mit florider Akromegalie wurde, wie unter 2.5.4.0. beschrieben, eine 40minütige, kontinuierliche Blutentnahme durchgeführt. Der Nachweis der Aktivität des Krankheitsprozesses war in allen Fällen durch radioimmunologische Bestimmung der hGH-Basalspiegel und endokrinologische Funktionstests erbracht worden.

3.3.1. Kasuistik

M. G., weibl., 48 J., floride Akromegalie

Die Patientin bemerkte 1965 im Alter von 40 Jahren erstmals ein Größerwerden von Händen und Füßen. Innerhalb eines halben Jahres sistierten die Menses, Arm- und Beinbehaarung nahm rasch zu, sie litt unter starker Schweißneigung. Trotz Reduktionsdiät starke Gewichtszunahme. Bei der klinischen Untersuchung fanden sich die typischen Akromegalie-Zeichen, eine Viszeromegalie war nicht nachweisbar. Die Sella turcica war röntgenologisch gering vergrößert, das Gesichtsfeld normal. Sowohl im IHT als auch im OGTT fand sich als Ausdruck der floriden Akromegalie eine starre hGH-Sekretion mit Werten um 13 ng/ml. Die Basalspiegel von LH waren niedrig und durch LH-RH nur gering stimulierbar.

W. L., männl., 47 J., floride Akromegalie

Der Beginn der Erkrankung läßt sich nicht exakt feststellen, er liegt wahrscheinlich schon in der Jugend (hypophysärer Gigantismus), die ständige Größenzunahme von Händen und Füßen, sowie die Vergrößerung der Gesichtszüge fielen dem Patienten nicht auf. Er klagte über starke rheumatische Beschwerden, Belastungsdyspnoe und Hyperhidrosis. Er bot das typische Bild des Akromegalen, neben einer ausgeprägten Akrenvergrößerung fanden sich eine Struma nodosa, linksverbreitertes Herz und eine Hepato-Splenomegalie. Die Röntgenaufnahme des Schädels zeigte eine ballonierte Sella

mit demineralisiertem Dorsum und Verdacht auf Tumoreinbruch in die Keilbeinhöhle. Die endokrinologischen Funktionstests ergaben normale Gonadenfunktion, ein durch TRH nicht stimulierbares, supprimierbares TSH, die OGTT zeigte ein paradoxes Ansteigen der hGH-Spiegel von einem pathologischen Nüchternwert von 28,8 ng/ml auf 36,0 ng/ml. Auch im IHT war die hGH-Sekretion stimulierbar.

F. D., männl., 58 J., Akromegalie-Rezidiv

Bei dem Patienten besteht wahrscheinlich seit 1965 eine Akromegalie. 1968 wurde ein Diabetes mellitus festgestellt. 1971 traten erstmals starke Kopfschmerzen auf. Ab 1972 bemerkte er ein Größerwerden von Händen und Füßen und des Kopfumfanges. Daneben kam es zu Libido- und Potenzverlust, Adynamie und Leistungsabfall.

Bei der Aufnahme in die Neurochirurgische Klinik Freiburg bot er das typische Bild der Akromegalie: Große Hände und Füße, vergrößerter Unterkiefer, Makroglossie, Kardiomegalie. Der hGH-Basalspiegel betrug 90 ng/ml. Am 14. 9. 72 wurde kombiniert offen stereotaktisch und transmaxillär-transsphenoidal ein Hypophysenadenom entfernt. Postoperativ kam es vorübergehend zu einer Abduzensparese rechts. Die Nachuntersuchung in der II. Med. Universitätsklinik München ergab einen manifesten Diabetes mellitus mit Glucosurie, die hGH-Spiegel waren weiterhin erhöht (um 27 ng/ml), durch Glucose nicht supprimierbar und stiegen im Argininbelastungstest gering an - die Akromegalie war weiterhin aktiv.

A. H., weibl., 33 J., Akromegalie-Rezidiv

1967 traten bei der Patientin erstmals starke rechtsseitige Kopfschmerzen und Schwellung des rechten Augenlids auf. Kurz darauf sistierten die Menses. 1970 bemerkte sie zunehmende Sehverschlechterung, Schleiersehen und seitliche Gesichtsfeldeinschränkung, ein Größerwerden von Händen und Füßen erklärte sie sich durch schwere Arbeit in der Landwirtschaft. Bei einer augenärztlichen Untersuchung fiel das akromegale Aussehen der Patientin auf.

Am 5. 2. 73 wurde auf transssphenoidalem Wege ein Hypophysenadenom entfernt. Postoperativ besserten sich Sehkraft, Gesichtsfeldeinschränkung, Kopfschmerzen und die Weichteilschwellung an Händen und Füßen. Der klinischen Besserung stand jedoch ein nach wie vor erhöhter hGH-Basalspiegel um 25 ng/ml gegenüber, der unter Insulinhypoglykämie, Argininbelastung und Zufuhr von L-Dopa nicht weiter stimulierbar und im OGTT nur gering supprimierbar war. Daneben bestanden eine sekundäre Nebennierenrindeninsuffizienz und eine sekundäre Hypothyreose.

J. R., männl., 62 J., floride Akromegalie

Der Patient hatte seit einem Jahr eine Größenzunahme an Händen und Füßen bemerkt, seit einem halben Jahr paßte die Zahnprothese nicht mehr, er klagte über starke Schweißneigung und Brennen und Pelzigkeitsgefühl in den Fingern. Bei der klinischen Untersuchung fielen die vergrößerten Akren, Hyperhidrosis und ein Carpal-tunnelsyndrom auf. Es bestand kein Hinweis auf Viszeromegalie oder HVL-Insuffizienz. Die neuroradiologische Untersuchung des Schädels ergab den Verdacht auf einen intrasellär lokalisierten Hypophysentumor. Die hGH-Basalspiegel waren auf 25 ng/ml erhöht, im IHT noch gering stimulierbar, stiegen im OGTT paradox von 23 auf 37 ng/ml an und waren durch L-Dopa nicht zu beeinflussen. TRH-, LH-RH-Test und die IHT-stimulierte Cortisolsekretion waren normal.

A. Sch., weibl., 50 J., floride Akromegalie

Wegen eines langjährigen Beschwerdebildes mit Nervosität, Schweißneigung und Leistungsabfall war 1946 eine Strumaresektion durchgeführt worden. In den folgenden Jahren war es zu einer raschen Vergrößerung von Händen und Füßen, einer auffälligen Vergrößerung der Gesichtszüge und starker Gewichtszunahme gekommen. 1947 und 1948 wurde deshalb zweimal eine Strahlenbehandlung der Hypophyse durchgeführt. Zu dieser Zeit wurde wegen einer sekundären Amenorrhoe eine Oestrogenbehandlung eingeleitet, spä-

ter traten Menorrhagien auf, die mit Radiumeinlagen behandelt wurden. 1971 Totaloperation wegen Ovarialzyste.

Die Patientin hatte die typischen akromegalen Veränderungen im Gesicht und an den Extremitäten, eine Viszeromegalie lag nicht vor. Am rechten Auge war das Gesichtsfeld leicht eingeschränkt, hinweisend auf ein beginnendes Chiasmasyndrom. Als Zeichen der floriden Akromegalie waren die hGH-Basalspiegel mit Werten um 35 ng/ml deutlich erhöht und durch OGTT, IHT, Argininzufuhr und L-Dpoa nicht beeinflussbar. Eine HVL-Insuffizienz lag nicht vor.

G. P., männl., 45 J., aktive Akromegalie

Bei dem Patienten wurde 1972 wegen einer röntgenologisch und laborchemisch gesicherten Akromegalie mit typischen Akrenveränderungen und Viszeromegalie eine transsphenoidale Hypophysektomie durchgeführt. Bei der postoperativen Kontrolluntersuchung bestanden weiterhin erhöhte Basalspiegel um 25 ng/ml, die im IHT gering stimulierbar waren, im OGTT fand sich ein "paradoxe" hGH-Anstieg von 27 auf 43 ng/ml. Damit mußte die Operation als erfolglos angesehen werden, die Akromegalie war weiterhin aktiv.

3.3.2. Ergebnis der kontinuierlichen Blutentnahme bei aktiver Akromegalie

Glucose:

Die Glucosespiegel liegen anfangs im Mittel um 100 mg% und schwanken im Verlauf des Tests in engen Grenzen. Bei J. R. und F. D. sind sie deutlich auf pathologische Werte erhöht (Tab. 4).

hGH:

Die bei der Untersuchung von Normalpersonen mit Stimulation der hGH-Sekretion durch Insulinhypoglykämie oder Argininbelastung erhobenen Befunde werden im Prinzip wiedergefunden. Bei allen

Tests zeigen die hGH-Spiegel ein äußerst schwankendes Verhalten, steigen plötzlich innerhalb weniger Minuten an, fallen ebenso rasch wieder ab oder verharren einige Zeit auf dem gleichen Level (Abb. 13, 14, 15, 16).

Eindrucksvoll zeigt sich diese "episodische" Sekretionsweise bei W. L. (Abb. 13). Während der 27 Minuten lang beobachteten hGH-Sekretion - die Untersuchung mußte wegen eines technischen Fehlers vorzeitig abgebrochen werden - lassen sich deutlich sechs wellenförmige Abschnitte von 4 - 6 Minuten Dauer mit Anstieg und Abfall der hGH-Spiegel erkennen und zwar von der 1. - 7., 7. - 11., 11. - 16., 16. - 20., 20. - 24. und 24. - 27. Minute. Dabei liegt der niedrigste hGH-Wert bei 38,5 ng/ml (15. Minute), der höchste bei 59,5 ng/ml (25. Minute), was einer Änderung um 55 % innerhalb von 10 Minuten entspricht.

Ähnliche Kurvenverläufe finden sich, wenn auch nicht mit der gleichen Regelmäßigkeit, bei den übrigen Untersuchungen. Auffällig ist ein im Vergleich zu den übrigen Schwankungen unverhältnismäßig hoher Anstieg von 38 auf 64 ng/ml innerhalb von 5 Minuten bei G. P. (Abb. 13). Umgekehrt kommt es bei F. D. (Abb. 14) ab der 25. Minute zu einem stetigen hGH-Abfall von einem deutlich pathologischen Wert von 38 ng/ml auf 5 ng/ml, ein Wert, der im oberen Normbereich eines Normalkollektivs liegt.

Die, in ng/ml gerechnet, größten Schwankungen der hGH-Spiegel und das unruhigste Kurvenprofil bieten sich bei A. Schn. (Abb. 15). In Abb. 16 sind alle Befunde zusammengefaßt und die einzelnen Minutenwerte jeweils als prozentuale Abweichung von dem aus allen vierzig Werten errechneten Mittelwert aufgetragen, um die ausgeprägten Schwankungen der hGH-Serumspiegel noch einmal deutlich zu machen. Die prozentual größten Abweichungen vom Mittelwert mit 61,8 % nach oben und 77,6 % nach unten finden sich bei F. D., im Durchschnitt betragen sie 40,3 % nach oben oder unten ($\bar{x} \pm S = 40,3 \% \pm 31,5$ bzw. $24,5 \pm 21,6$ ng/ml).

Tab. 4 Aktive Akromegalie: Verhalten der Glucosespiegel während kontinuierlicher Blutentnahme

Zeit (min.)	- 0	5	10	15	20	25	30	35	40	$\bar{x}$	S
M. G.	99,6	110,3	93,7	98,9	100,2	100,2	100,9	98,9	99,7	100,2	4,4
J. R.	119,1	120,4	118,4	115,8	124,9	112,6	113,9	114,8	118,4	117,6	3,9
A. Sch.	87,8	81,3	90,4	87,8	85,2	85,2	86,0	90,4	90,7	87,2	3,1
F. D.	132,1	160,1	158,8	134,1	139,3	149,0	140,6	138,1	138,8	143,4	10,2
A. H.	87,8	93,0	86,5	91,1	86,5	85,2	90,5	88,5	89,8	88,7	2,6
G. P.	95,0	98,3	96,3	96,3	97,6	100,0	102,8	103,5	107,5	99,7	4,1
W. L.	88,5	89,8	90,5	97,0	86,2	92,4	-	-	-	90,7	3,7

AKTIVE AKROMEGALIE

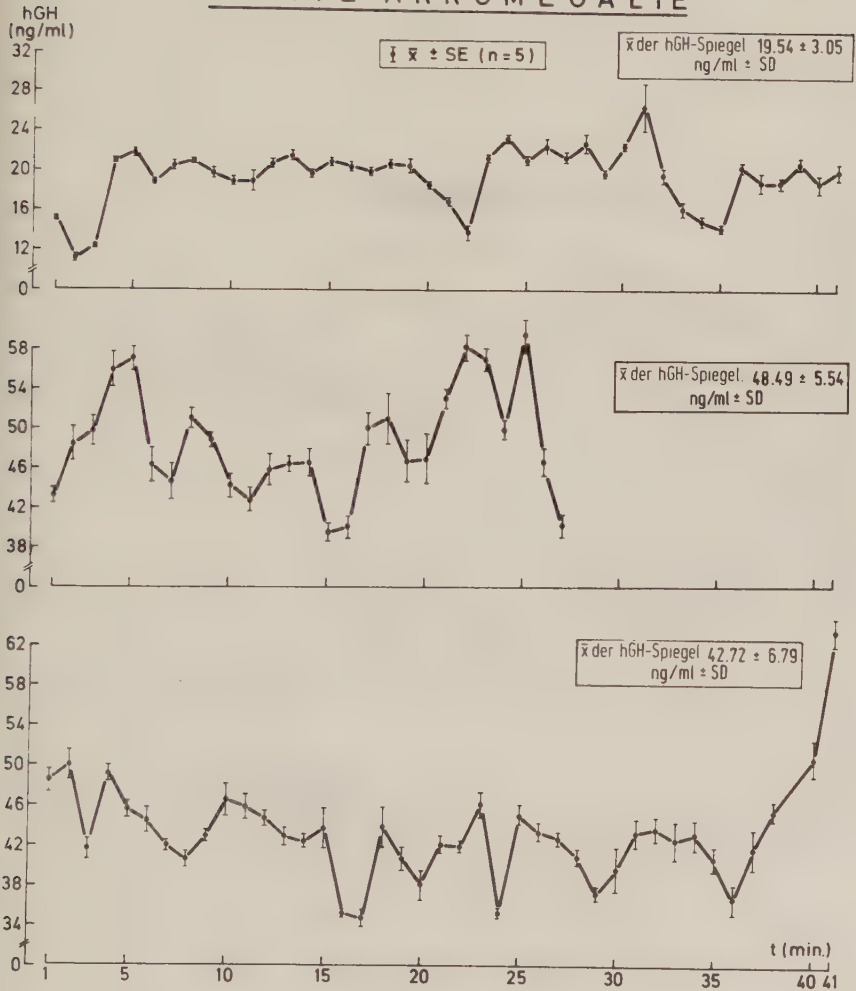


Abb. 13 Phasenhafte hGH-Sekretion bei 3 Patienten mit aktiver Akromegalie.
Oben Pat. M. G., Mitte Pat. W. L., unten Pat. G. P.

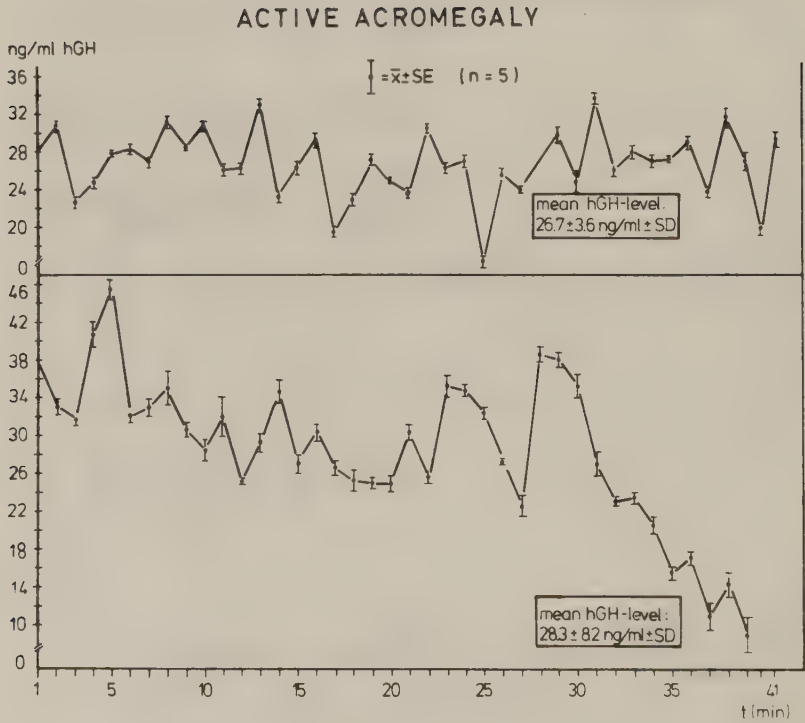


Abb. 14 hGH-Sekretionsmuster bei zwei Patienten mit aktiver Akromegalie.
Oben Pat. A. H., unten Pat. F. D.

ACTIVE ACROMEGALY

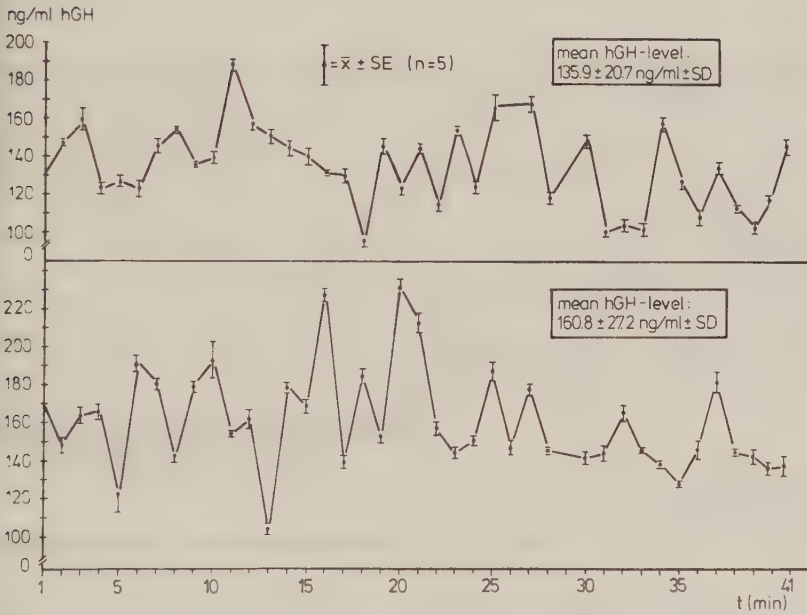


Abb. 15 hGH-Sekretionsmuster bei zwei Patienten mit aktiver Akromegalie.
Oben Pat. J. R., unten Pat. A. Sch.

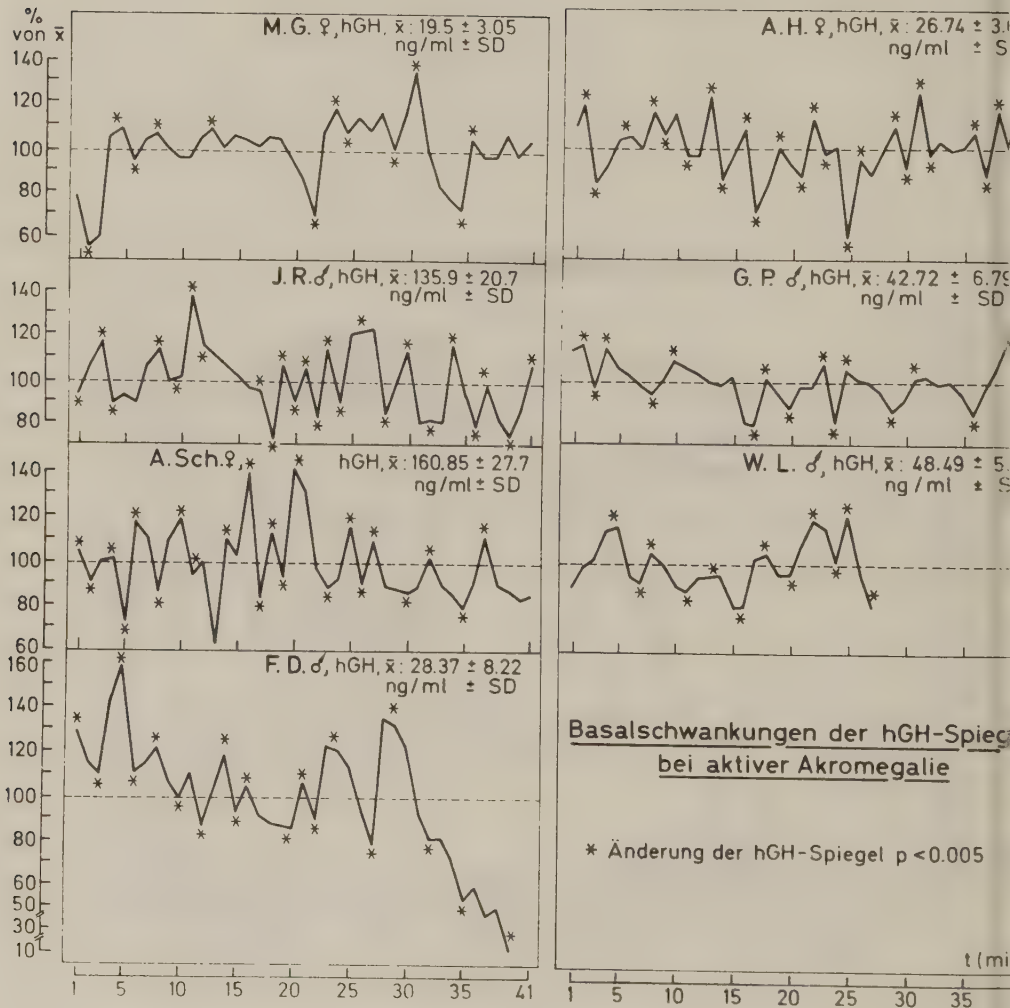


Abb. 16 Basalschwankungen der hGH-Spiegel bei 7 Patienten mit aktiver Akromegalie. Der Mittelwert sämtlicher Einzelbestimmungen eines Tests wurde gleich 100 % gesetzt und die Einzelwerte in % des Mittelwerts aufgetragen. Fluktuationen mit einer Signifikanz von $p < 0.005$ sind wieder mit einem Stern bezeichnet.

3.4. Inaktive Akromegalie

Bei sechs Patienten mit inaktiver Akromegalie wurde, wie unter 2.5.0.0. beschrieben, eine 40minütige, kontinuierliche Blutentnahme durchgeführt.

3.4.1. Kasuistik

W. L., männl., 47 J., Z. n. Hypophysektomie wegen florider Akromegalie

Bei dem Patienten war bereits präoperativ eine kontinuierliche Blutentnahme durchgeführt worden, bezüglich der präoperativen Anamnese siehe Abschnitt 3.3.1.

Nach Durchführung der transssphenoidalen Hypophysektomie gingen die Weichteilschwellungen an Händen und Füßen zurück, es bestanden weiterhin eine Viszeromegalie sowie Adynamie und Muskelschwäche als Ausdruck einer sekundären NNR-Insuffizienz (Cortisol im ACTH-Test und im IHT nicht stimulierbar). Die hGH-Werte waren mit 8 ng/ml in die Nähe des Normbereichs gesenkt, im OGTT gering suppressierbar, im IHT nicht stimulierbar. Die Blutzuckerwerte waren im OGTT pathologisch erhöht bei niedrigen Insulinspiegeln (metahypophysärer Diabetes mellitus).

T. H., weibl., 62 J., inaktive Akromegalie

Die Patientin hatte seit fünf Jahren eine Größenzunahme von Händen und Füßen, sowie eine Vergrößerung der Gesichtszüge bemerkt und litt unter starken Kopfschmerzen und Schweißneigung. Anlässlich einer Glaukombehandlung in einer Augenklinik fiel ihr akromegales Aussehen mit Vergrößerung und teigiger Schwellung der Akren auf. Daneben bestand eine Struma diffusa Grad I und eine Hepatomegalie. Die Sella war röntgenologisch beträchtlich balloniert. Die Wachstumshormonspiegel waren nur gering auf Werte um 7 ng/ml erhöht, durch Glucose-, Arginin- und L-Dopa-Zufuhr nicht beeinflussbar, durch Insulin stimulierbar. Es lag somit eine "aus-

gebrannte" Akromegalie vor, eine Indikation zur Hypophysektomie war nicht gegeben.

E. T., weibl., 49 J., inaktive Akromegalie

Die Erkrankung konnte bis 1954 zurückverfolgt werden. Damals traten während der 1. Gravidität Kopfschmerzen und Doppelbilder auf, die Schuhgröße nahm von 39 auf 42 zu. Während einer 2. Gravidität 1956 kam es zu temporaler Gesichtsfeldeinschränkung mit reversiblen Visusverlust rechts. Auch eine 3. Schwangerschaft ging mit rechtsseitiger Sehverschlechterung und Kopfschmerzen einher.

Die Patientin zeigte die typische Akrenvergrößerung, eine Makroglossie, beidseitige Thenaratrophie und einen Druckschmerz über den Handgelenken im Sinne eines Carpaltunnelsyndroms.

Die ophtalmologische Untersuchung ergab den Verdacht auf beginnende Opticusatrophie rechts. Die endokrinologischen Funktionstests ergaben keinen Anhalt für eine HVL-Insuffizienz. Die hGH-Spiegel waren mit Werten um 6 ng/ml nur gering erhöht und durch Glukosezufuhr und Insulinhypoglykämie nicht beeinflussbar. In Anbetracht der Anamnese, der klinischen und endokrinologischen Befunde mußte eine "ausgebrannte" Akromegalie angenommen werden.

D. V., weibl., 32 J., Z. n. zweimaliger Hypophysektomie wegen florider Akromegalie

Die Patientin bemerkte erstmals 1969 eine Vergrößerung der Hände. Zu dieser Zeit trat auch eine Oligo-Amenorrhoe auf. 1971 wurde in Erlangen eine floride Akromegalie mit hGH-Werten um 60 ng/ml diagnostiziert und in der neurochirurgischen Universitätsklinik München auf transssphenoidalem Wege ein Hypophysenadenom entfernt. Postoperativ kam es zu einem Rückgang der Weichteilschwellung, die Meneses waren wieder regelmäßig.

Bei einer Kontrolluntersuchung 1972 klagte die Patientin über starke Kopfschmerzen und starkes Schwitzen, ein weiteres Akrenwachstum hatte sie nicht bemerkt. Bei der klinischen Untersuchung

fielen neben dem akromegalen Aspekt vor allem die fleischigen, stark schweißigen Hände auf, Hinweis auf einen weiterhin aktiven Krankheitsprozeß. Von den Laborwerten war der Serumphosphor mit 8,1 mg% deutlich erhöht, die hGH-Spiegel lagen bei 40 ng/ml und waren durch Glucose-, Insulin- und Argininzufuhr nicht beeinflusbar.

Im November 1972 wurden auf transssphenoidalem Wege Adenomreste entfernt und zusätzlich eine Vereisung mit der Kryosonde durchgeführt. Postoperativ besserten sich Kopfschmerzen und Hyperhidrosis rasch. Die hGH-Spiegel lagen bei allen Tests unter 9 ng/ml. Als Folge der radikalen Therapie bestanden jetzt eine sekundäre NNR-Insuffizienz, eine sekundäre Hypothyreose, ein hypogonadotroper Hypogonadismus und ein Diabetes insipidus.

V. S., weibl., 59 J., Z. n. Hypophysenbestrahlung wegen aktiver Akromegalie

Der Patientin war seit 1957 ein Wachstum von Händen und Füßen, des Kinns, der Nase und der Zunge aufgefallen. Aufgrund des klinischen Befundes und der röntgenologisch nachweisbaren Sellavergrößerung wurde 1964 eine floride Akromegalie diagnostiziert und eine Gammatron-Bestrahlung der Hypophyse mit insgesamt 7200 rad durchgeführt.

In den folgenden Jahren befand sich die Patientin immer in endokrinologischer Kontrolle, zuletzt 1972. Sie hatte kein Akrenwachstum mehr bemerkt, die hGH-Spiegel lagen zuletzt um 4 ng/ml. Es handelt sich somit um einen Zustand nach erfolgreicher Radiation eines hGH-produzierenden Hypophysentumors.

D. S., weibl., 33 Jahre, inaktive Akromegalie

Die Patientin bemerkte seit 1962 eine Größenzunahme der Füße und Vergrößerung der Hände, litt unter Müdigkeit und nahm an Gewicht zu. Die Menses waren unregelmäßig. 1968 konsultierte sie wegen einer rechtsseitigen Visusabnahme einen Augenarzt, der eine rechtsseitige Gesichtsfeldeinschränkung feststellte und die Pa-

tientin in die neurologische Klinik überwies. Dort wurde die Diagnose Akromegalie gestellt und eine Strahlenbehandlung der Hypophyse mit insgesamt 3100 rad durchgeführt. Danach war keine weitere Zunahme der Symptome mehr feststellbar.

Seit Januar 1972 befand sich die Patientin in unserer Kontrolle. Sie zeigte die typischen akromegalen Veränderungen, als Folge der Radiatio bestand eine Amenorrhoe. Die hGH-Sekretion war weder durch Insulinhypoglykämie noch durch Argininbelastung stimulierbar, die hGH-Serumspiegel lagen um 3 ng/ml. Somit bestand ein hormoninaktiver Hypophysentumor.

3.4.2. Ergebnis der kontinuierlichen Blutentnahme bei inaktiver Akromegalie

Glucose:

Die Blutzuckerwerte zeigen nur geringe Schwankungen. Sie liegen im Mittel bei 88,5 mg% und sind lediglich bei T. H. pathologisch erhöht (Tab. 5).

hGH:

Auch bei Patienten mit inaktiver Akromegalie zeigt sich, daß die hGH-Spiegel im Serum ständigen Schwankungen unterworfen sind. Es lassen sich wiederum einzelne Phasen von 3 - 6 Minuten Dauer mit Hormonanstieg und -abfall erkennen, die zum Teil sehr regelmäßig aufeinanderfolgen (T. H., Abb. 18, W. L. Abb. 17), zum Teil völlig ungeordnet und in unterschiedlicher Stärke auftreten. Auffällig ist ein im Vergleich zu den nachfolgenden hGH-Spiegeln unerwartet hoher Ausgangswert mit einem steilen Abfall innerhalb von 10 Minuten bei D. V. (Abb. 17). Wir führen dies auf eine streßbedingte Mehrsekretion von hGH vor Testbeginn zurück, da die Patientin sehr ängstlich und aufgeregt war.

Insgesamt fallen die Einzelschwankungen jedoch schwächer aus als bei aktiver Akromegalie: bei einer mittleren hGH-Konzentration aller 6 Patienten von $7,29 \pm 2,96$ ng/ml $\pm$ SD beträgt der Mittel-

wert aller Maximalabweichungen nach oben oder unten $28,2 \pm 14 \%$ ($\bar{x} \pm SD$). Die Zahl der hGH-Spiegel, die mit einer Signifikanz von $p < 0,005$ voneinander abweichen, ist deutlich geringer als bei aktiver Akromegalie (siehe Abb. 19, vergl. Abb. 16).

3.5. hGH-Sekretionsmuster eines Patienten vor und nach transphenoidaler Operation

Bei dem Patienten W. L. (siehe 3.3.1 und 3.4.1) konnte vor und nach operativer Entfernung eines hGH-produzierenden Hypophysenadenoms eine kontinuierliche Blutentnahme durchgeführt werden. Das Ergebnis ist noch einmal in Abb. 20 dargestellt.

Der mittlere hGH-Spiegel konnte von $48,5 \pm 5,5$ ng/ml $\pm SD$ auf $11,9 \pm 1,1$ ng/ml gesenkt werden, die praeoperativ ausgeprägten Fluktuationen sind postoperativ an Zahl und Höhe deutlich vermindert.

Tab. 5 Inaktive Akromegalie: Verhalten der Glucosespiegel während kontinuierlicher Blutentnahme

Zeit (min.)	0	5	10	15	20	25	30	35	40	$\bar{x}$	S
T. H.	112,6	120,0	118,4	-	112,6	117,8	109,3	116,5	109,3	114,5	4,2
V. S.	94,3	93,7	93,7	88,5	86,0	88,5	86,5	89,8	88,5	89,9	3,2
D. S.	97,0	87,8	-	97,0	87,2	90,4	83,9	93,0	83,0	89,9	5,4
D. V.	72,2	70,3	67,0	67,0	68,3	65,1	65,1	63,7	68,3	67,5	2,7
E. T.	-	84,6	102,8	87,8	102,2	85,2	93,0	91,1	84,6	91,4	7,5
W. L.	77,4	76,8	74,8	76,1	78,7	78,7	84,6	77,4	79,4	78,2	2,8

INACTIVE ACROMEGALY

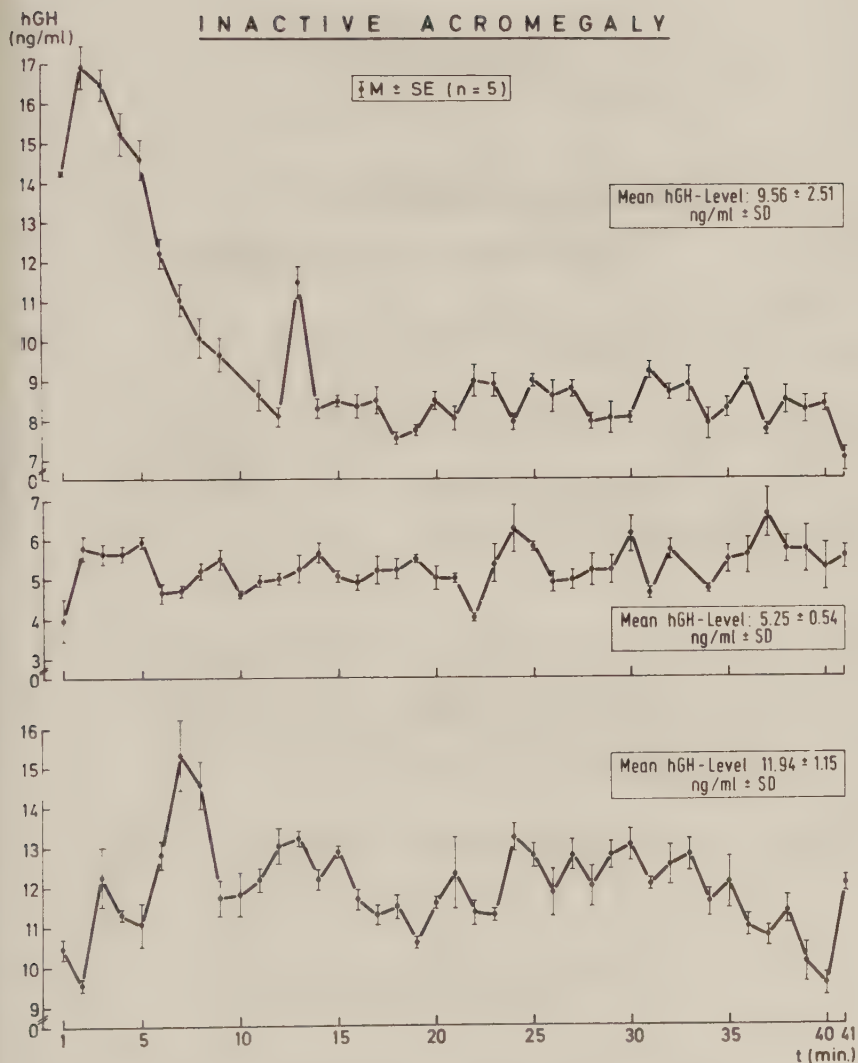


Abb. 17 Phasenhafte hGH-Sekretion bei 3 Patienten mit inaktiver Akromegalie.
Oben Pat. D. V., Mitte Pat. E. T., unten Pat. W. L.

INAKTIVE AKROMEGALIE

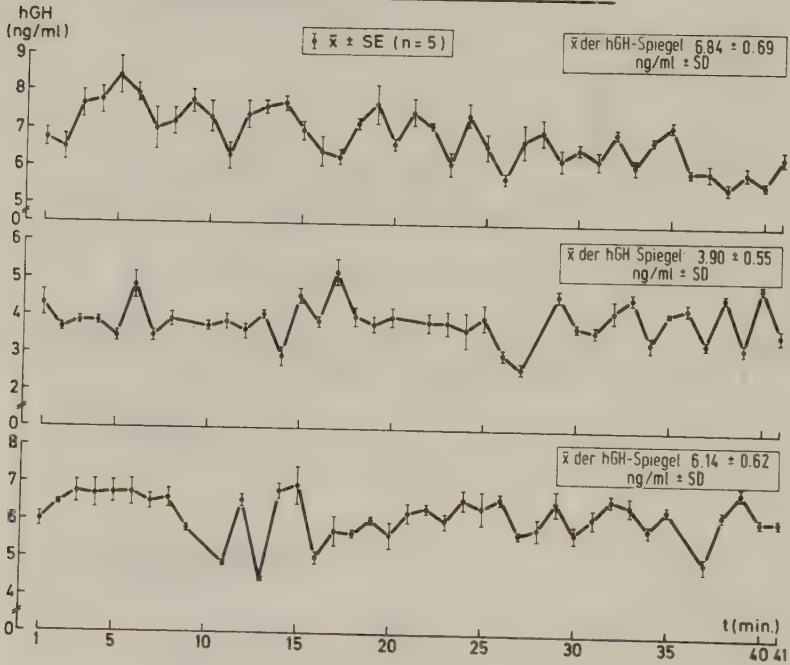


Abb. 18 Phasenhafte hGH-Sekretion bei 3 Patienten mit inaktiver Akromegalie.
Oben Pat. T. H., Mitte Pat. V. S., unten Pat. D. S.

Basalschwankungen der hGH-Spiegel

bei inaktiver Akromegalie

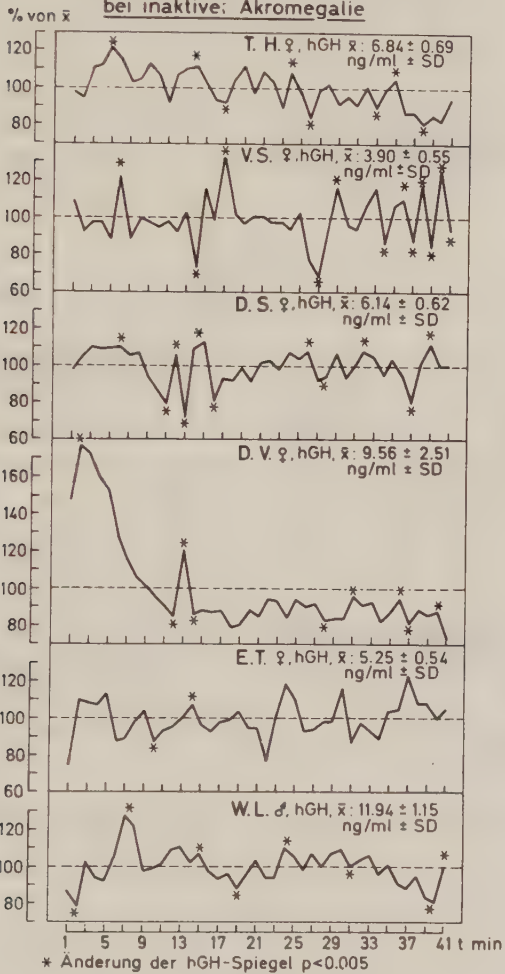


Abb. 19 Basalschwankungen der hGH-Spiegel bei 6 Patienten mit inaktiver Akromegalie. Der Mittelwert sämtlicher Einzelwerte wurde gleich 100 % gesetzt und die Einzelwerte in % des Mittelwertes aufgetragen. Fluktuationen mit einer Signifikanz von $p < 0.005$ sind mit einem Stern versehen.

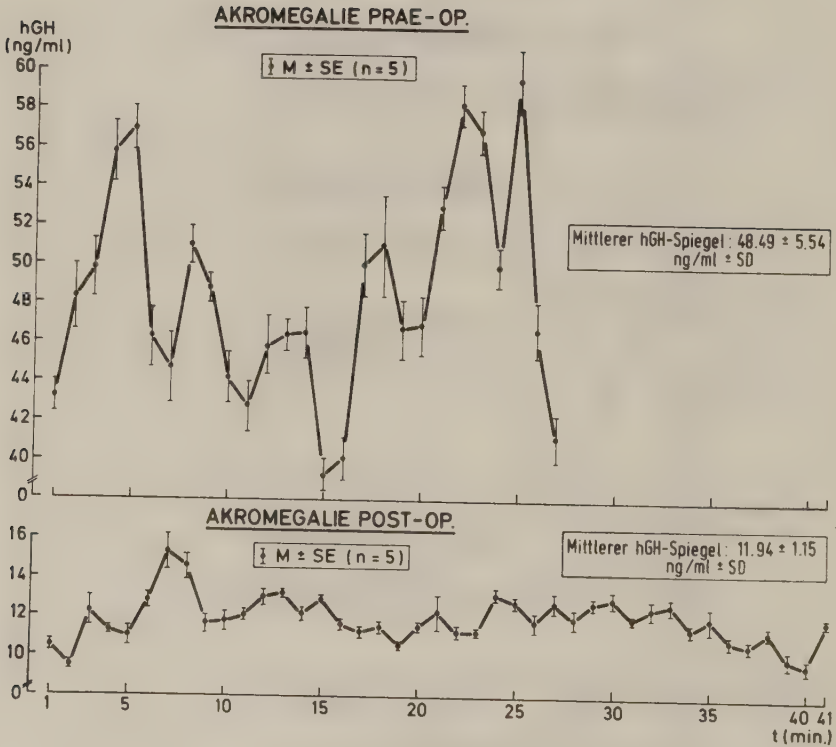


Abb. 20 hGH-Sekretionsmuster desselben Patienten (W. L.) vor und nach transphenoidaler Hypophysektomie. Neben der Senkung des hGH-Spiegels fällt ein deutlicher Rückgang der praeoperativ ausgeprägten Spontanfluktuationen auf.

4. DISKUSSION

Ziel dieser Arbeit war es, zu untersuchen, ob für menschliches Wachstumshormon ein sogenannter "episodischer Sekretionsrhythmus", wie er bei mehreren Peptid-Hormonen gefunden wurde, nachweisbar ist, ob Unterschiede im Sekretionsmuster von endokrinologisch gesunden Personen und Patienten mit pathologisch gesteigerter hGH-Sekretion bestehen und welche Konsequenzen sich für die Beurteilung einzelner hGH-Werte und die Interpretation von klinischen Funktionstests ergeben.

hGH-Sekretionsmuster bei normaler HVL-Funktion

Unsere Messungen zeigen zum Teil ausgeprägte Schwankungen der hGH-Spiegel in Zeiträumen von wenigen Minuten, als deren Ursache wir eine stoßweise, "episodische" hGH-Sekretion der somatotrophen Zellen annehmen. Dabei ist zu bedenken, daß die Konzentration eines Hormons im peripheren Blut neben der hypophysären Sekretionsrate entscheidend durch die Parameter Halbwertszeit, Verteilungsvolumen und metabolische Clearance bestimmt wird. Die biologische Halbwertszeit wird in der Literatur mit 14 - 50 min. angegeben (26, 57, 63). Diese verschiedenen Befunde erklären sich aus der unterschiedlichen Methodik, die zur Bestimmung der einzelnen Parameter angewendet wurden. So schwankt die Halbwertszeit von hGH beträchtlich, je nachdem, ob exogenes markiertes, nicht markiertes nach Bolusinjektion oder Infusion oder endogenes hGH nach akuter Sekretionshemmung gemessen wurde. Das Verteilungsvolumen soll etwa 80 ml/kg Körpergewicht (57) und die metabolische Clearancerate zwischen 50 und 300 ml/min. betragen (57, 75, 3, 11, 50, 73, 74). Dabei besteht eine enge Korrelation zwischen Clearance und Verteilungsvolumen (57). Es wird von mehreren Autoren angenommen, daß hGH hauptsächlich im Intravasalraum verteilt ist, normalerweise nicht frei in den extravasalen Raum diffundiert und somit Leber und Nieren als Hauptorte des Metabolismus anzusehen sind. Tatsächlich tritt eine, allerdings sehr langsam sich entwickelnde Änderung der normalerweise sowohl von Tag zu Tag als auch bei den verschiedensten hGH-Konzentrationen

sehr konstanten Clearance bei chronischen Leber- und Nierenerkrankungen auf (11, 57, 74). Eine rasche Änderung der Clearance-Rate findet man dagegen bei Änderung der Lageposition mit einer 25 %igen Verringerung der MCR vom Liegen zum Stehen (3, 73).

Daneben muß die Vielzahl von metabolischen und exogenen Stimulatoren und Inhibitoren berücksichtigt werden, die die sekretorische Aktivität der Hypophyse direkt beeinflussen und auf diesem Weg eine Änderung der peripheren Hormonkonzentration herbeiführen können (82).

Wir glauben jedoch, die eben genannten Parameter weitgehend vernachlässigen zu können. Zum einen waren unsere Versuchspersonen alle leber- und nierengesund und alle Tests wurden am liegenden Probanden durchgeführt. Weiter sind die rasch aufeinanderfolgenden Hormonpeaks von 3 - 6 min. Dauer auch unter Berücksichtigung der kürzesten, in der Literatur angegebenen Halbwertszeit nicht als Abbauvorgänge zu erklären. Schließlich erscheint es unwahrscheinlich, daß in einem Zeitraum von 40 min. - während der Phase der kontinuierlichen Blutentnahme - eine mehrmals plötzlich eintretende Veränderung von Clearance oder Verteilungsvolumen oder die verschiedenen stimulierend oder hemmend auf die hGH-Sekretion einwirkenden Mechanismen die beobachteten, sägezahnartigen Fluktuationen der Hormon- bewirkt haben könnten. Zu diesem Schluß kommt auch Owens: Akute Fluktuationen von Hormonspiegeln im peripheren Blut zeigen Änderungen der Sekretionsrate und nicht Änderungen im Metabolismus an (57).

Auch die Wahrscheinlichkeit, daß es sich bei den Hormonschwankungen um durch technische Mängel hervorgerufene Artefakte handeln könnte, erscheint gering.

So haben wir darauf geachtet, daß die Blutentnahme mit der Präzisionspumpe bei konstanter Flußrate erfolgte und daß alle Blutproben so schnell wie möglich und zur gleichen Zeit verarbeitet wurden. Mit den im Radioimmunoassay verwendeten Antikörpern konnten Konzentrationsunterschiede von 1 ng/ml erfaßt werden. Jede Probe wurde fünffach bestimmt und in einem Fall sämtliche Blutproben in zwei getrennten Ansätzen bestimmt, wobei sich eine

gute Übereinstimmung ergab (vgl. Abb. 3). Die zur Erreichung einer höheren Ausgangskonzentration durchgeführte Insulin- bzw. Argininzufuhr stellt eine physiologische Stimulation der hGH-Sekretion dar und dürfte ebenfalls nicht als Urheber der beobachteten, charakteristischen Sekretionsmuster in Frage kommen.

Zusammenfassend muß also angenommen werden, daß die raschen Fluktuationen der hGH-Spiegel Ausdruck einer episodischen Sekretionsweise der Hypophyse sind, wie es schon von einigen Autoren angenommen wurde.

Die Annahme einer episodischen Hormonsekretion paßt auch zu den Vorstellungen von SMITH et al. von der Arbeitsweise der somatotrophen Zelle mit einer bolusartigen Ausstoßung von Hormongranula in den perivaskulären Raum (71).

Diese episodische Sekretionsweise der Hypophyse erklärt auch Ergebnisse von in unserem Labor durchgeführten, zeitgleichen Messungen von hGH-Spiegeln im Bulbus venae jugularis und in der Peripherie. Dabei konnten weder bei HVL-normalen noch bei adipösen Probanden, deren periphere hGH-Spiegel auf Stimulation geringer reagieren (6), während eines Stimulationstests zentral-periphere hGH-Differenzen gefunden werden (29). Dies dürfte auf die ausgeprägten Fluktuationen der hGH-Spiegel unter Stimulation zurückzuführen sein, die bei einer Blutentnahme in 15minütigem Abstand nicht erfaßt werden konnten.

hGH-Sekretionsmuster bei aktiver und inaktiver Akromegalie

Die Sekretionsweise der kranken Hypophyse mit pathologischer Steigerung der Hormonsekretion scheint sich gegenüber der einer gesunden Hypophyse prinzipiell nicht zu ändern.

Wiederum fällt ein sägezahnartiges Muster von Konzentrationspeaks in Abständen von wenigen Minuten auf. Allerdings nehmen die Fluktuationen - wahrscheinlich als Folge der gesteigerten hypophysären Aktivität - an Größe und Frequenz zu, die Phasen sekretorischer Aktivität lassen sich deutlicher als bei Normal-

personen von Abschnitten sekretorischer Pause abgrenzen.

Dabei verringern sich Zahl und Ausmaß der hGH-Schwankungen nach therapeutischer oder spontaner Beendigung ("ausgebrannte" Akromegalie) des Hormonexzesses deutlich, die noch verbliebene funktionstüchtige Resthypophyse arbeitet jedoch weiter nach dem gleichen Prinzip der episodischen Hormonsekretion.

Die oben angestellten Überlegungen bezüglich der Berücksichtigung metabolischer Einflüsse auf die hGH-Sekretion gelten auch hier. Verteilungsvolumen und Clearance ändern sich nicht (50), die Halbwertszeit des Akromegalen soll länger sein als beim Gesunden (63). Gegenüber dem Normalkollektiv entfällt auch die dort notwendige Stimulation mit Insulin bzw. Arginin, was die Annahme einer episodischen Sekretionsweise der Hypophyse noch wahrscheinlicher macht.

Die quantitative und qualitative Verminderung der Sekretionsepisoden nach Behandlung der hGH-Mehrsekretion scheint somit neben der absoluten Senkung des hGH-Serumspiegels ein sicheres, wenn auch für die Praxis zu aufwendiges Kriterium bei der Beurteilung des therapeutischen Erfolges in der Behandlung einer floriden Akromegalie darzustellen.

Abbildung 20 zeigt einen derartigen Fall.

Klinische Bedeutung einer "episodischen" hGH-Sekretion

Die ständige, sich innerhalb weniger Minuten vollziehende Änderung der hGH-Konzentration im peripheren Blut mindert die Aussagekraft eines einzelnen, in einer Serumprobe gemessenen hGH-Werts beträchtlich. Zwar wird einem hGH-Basalspiegel von 40 ng/ml mit Sicherheit eine floride Akromegalie zugrunde liegen und ein Wert von 4 ng/ml eine normale hGH-Produktion anzeigen, bei einem hGH-Spiegel von z. B. 10 ng/ml könnte es sich jedoch sowohl um den zufälligen Sekretionspeak einer normal sezernierenden Hypophyse als auch um eine sekretorische Pause bei an sich pathologisch gesteigerter Hormonausschüttung handeln. In diesem ng-Bereich bewegen sich häufig die hGH-Spiegel von Akro-

megalie-Patienten nach einer operativen Behandlung, so daß die Beurteilung des therapeutischen Erfolges erschwert ist. Um eine sichere Aussage über die sekretorische Aktivität der Hypophyse zu erhalten, sind somit entweder möglichst viele Einzelmessungen peripherer hGH-Spiegel oder eine Einzelbestimmung aus einer über einen Zeitraum von mindestens 15 min. kontinuierlich abgepumpten Blutprobe erforderlich.

In den letzten Jahren wurde immer wieder versucht, die aktive Akromegalie nach dem Verhalten der hGH-Spiegel unter einer Glucosebelastung - Suppression, fehlende Suppression, "paradoxe Anstieg" -, sowie unter Stimulationstests - erhaltene Stimularbeit, starre, unbeeinflussbare Sekretion - in primäre, hypophysär - autonome und in sekundär-hypothalamische Formen einzuteilen (4, 16, 18, 22, 45). Nach unseren Befunden erscheint dies zumindest dann problematisch, wenn bei nachgewiesenen Spontanfluktuationen bis zu 100 % z. B. eine Suppression des hGH-Spiegels um 30 % der Basalwerte während eines Glucosebelastungstests oder ein Anstieg von 20 auf 25 mg/ml während eines Insulinhypoglykämietests als hypothalamische Akromegalieform mit erhaltenem regulatorischen Einfluß des Hypothalamus auf die hGH-Sekretion der Hypophyse interpretiert werden. So fand sich z. B. bei unserem Akromegalie-Patienten P. nach Glucosebelastung ein "paradoxe" Anstieg der hGH-Spiegel um 59 % von 27 auf 43 mg/ml, während sie im Insulinhypoglykämietest von 18 mg auf 25 mg/ml anstieg. Zum einen ein autonomes, zum anderen ein "hypothalamisch gesteuertes" Verhalten, obgleich sowohl Hypo- als auch Hyperglykaemie über den gleichen Angriffspunkt im Nucleus ventromedialis die hGH-Sekretion beeinflussen und somit ein gegensätzliches Verhalten zu erwarten wäre. Die widersprüchlichen Zahlen dürften sich jedoch einfach aus der innerhalb der Breite der Spontanfluktuationen liegenden Änderung der hGH-Spiegel erklären. Die Existenz einer sekundären hypothalamischen Akromegalie soll hier nicht in Frage gestellt werden. Zur sicheren Beurteilung eines Funktionstests sind einmal Änderungen der hGH-Spiegel um mindestens 50 %, besser 100 % des Ausgangswertes erforderlich.

Zum anderen muß das Verhalten der hGH-Sekretion in einem wiederholten Test reproduzierbar sein. Ist dies gewährleistet, so ist eine hGH-Mehrsekretion als glucose-supprimierbar bzw. insulinstimulierbar anzusehen und damit eine hypothalamische Kontrolle der gesteigerten hGH-Sekretion anzunehmen.

Dies beinhaltet natürlich nicht eine hypothalamische Ursache der Akromegalie, da bekannt ist, daß auch autonom gewachsene Adenome einer Kontrolle durch stimulierende und inhibierende Faktoren unterliegen können.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Die Sekretionsdynamik von menschlichem Wachstumshormon (hGH) wurde an sieben Patienten mit aktiver und sechs Patienten mit inaktiver Akromegalie, sowie an je fünf endokrinologisch gesunden Kontrollpersonen während eines Insulinhypoglykämietests bzw. eines Argininbelastungstests mittels 40minütiger, kontinuierlicher Blutentnahme und fraktionierter Probensammlung in einminütigen Abständen untersucht.

Sowohl bei gesunden Versuchspersonen als auch bei Patienten mit aktiver oder inaktiver Akromegalie zeigten sich, zum Teil ausgeprägte, rasche Fluktuationen der hGH-Spiegel, wobei innerhalb weniger Minuten Konzentrationsänderungen bis zu 100 Prozent beobachtet wurden. Diese raschen Fluktuationen sind Ausdruck einer episodischen hGH-Sekretion der Hypophyse mit kurzen Phasen sekretorischer Aktivität, die von Phasen sekretorischer Ruhe gefolgt sind.

Die ausgeprägtesten Fluktuationen finden sich bei der aktiven Akromegalie, nach erfolgreicher Behandlung des Hormonexzesses kann eine deutliche, quantitative und qualitative Verminderung der Sekretionsepisoden beobachtet werden. Damit steht ein sicheres, für die Praxis allerdings zu aufwendiges Kriterium bei der Beurteilung des therapeutischen Erfolges zur Verfügung.

Die phasenhafte Sekretion von hGH läßt den diagnostischen Wert der Messung einzelner hGH-Spiegel sowie eine einzig darauf beruhende Beurteilung des therapeutischen Erfolges fraglich erscheinen. Zur sicheren Bestimmung der hGH-Konzentration im Serum sind entweder möglichst viele Messungen oder die Bestimmung der Hormonkonzentration in einer über mindestens 15 Minuten kontinuierlich entnommenen Blutprobe notwendig.

Eine nicht autonome, noch der hypothalamischen Kontrolle unterliegende hypophysäre Mehrsekretion von Wachstumshormon darf nur dann angenommen werden, wenn die hGH-Spiegel nach Stimulation oder Suppression der Sekretion um mindestens 50, besser 100 Prozent vom Basalwert abweichen und diese Ergebnisse reproduzierbar sind.

Summary

The secretory pattern of human growth hormone (hGH) was studied in seven patients with active and six patients with inactive acromegaly, five healthy adults during an insulininduced hypoglycaemia and another five after arginin-infusion by constant withdrawal of blood for 40 minutes and frequent sampling in one-minute - intervals.

Healthy test-persons as well as patients with active or inactive acromegaly showed marked, rapid fluctuations of hGH-levels with changes of hGH-concentration up to 100 percent within a few minutes. These rapid fluctuations are due to an episodic hGH-release from the anterior pituitary gland with brief secretory episodes, which are followed by periods of secretory inactivity.

The most striking fluctuations could be found in active acromegaly. Successful treatment led to a distinct, quantitative and qualitative decrease in secretory episodes - a reliable criterion in the question, whether the treatment of acromegaly was successful or not.

The episodic nature of hGH-secretion casts doubt on the reliability of a single hGH-determination. For the exact estimation of hGH-concentration in serum it is therefore necessary, either to carry out the assay on as many samples as possible or to measure the integrated concentration of GH in a 15-minute-sample, obtained by continuous withdrawal of blood.

A non-autonomous behaviour of hGH-secretion in acromegaly with persistent hypothalamic influence on the pituitary gland can only be supposed, if changes in GH-levels after stimulation or suppression of secretion are greater than 50, better 100 percent of basal values.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Die Sekretionsdynamik von menschlichem Wachstumshormon (hGH) wurde an sieben Patienten mit aktiver und sechs Patienten mit inaktiver Akromegalie, sowie an je fünf endokrinologisch gesunden Kontrollpersonen während eines Insulinhypoglykämietests bzw. eines Argininbelastungstests mittels 40minütiger, kontinuierlicher Blutentnahme und fraktionierter Probensammlung in einminütigen Abständen untersucht.

Sowohl bei gesunden Versuchspersonen als auch bei Patienten mit aktiver oder inaktiver Akromegalie zeigten sich, zum Teil ausgeprägte, rasche Fluktuationen der hGH-Spiegel, wobei innerhalb weniger Minuten Konzentrationsänderungen bis zu 100 Prozent beobachtet wurden. Diese raschen Fluktuationen sind Ausdruck einer episodischen hGH-Sekretion der Hypophyse mit kurzen Phasen sekretorischer Aktivität, die von Phasen sekretorischer Ruhe gefolgt sind.

Die ausgeprägtesten Fluktuationen finden sich bei der aktiven Akromegalie, nach erfolgreicher Behandlung des Hormonexzesses kann eine deutliche, quantitative und qualitative Verminderung der Sekretionsepisoden beobachtet werden. Damit steht ein sicheres, für die Praxis allerdings zu aufwendiges Kriterium bei der Beurteilung des therapeutischen Erfolges zur Verfügung.

Die phasenhafte Sekretion von hGH läßt den diagnostischen Wert der Messung einzelner hGH-Spiegel sowie eine einzig darauf beruhende Beurteilung des therapeutischen Erfolges fraglich erscheinen. Zur sicheren Bestimmung der hGH-Konzentration im Serum sind entweder möglichst viele Messungen oder die Bestimmung der Hormonkonzentration in einer über mindestens 15 Minuten kontinuierlich entnommenen Blutprobe notwendig.

Eine nicht autonome, noch der hypothalamischen Kontrolle unterliegende hypophysäre Mehrsekretion von Wachstumshormon darf nur dann angenommen werden, wenn die hGH-Spiegel nach Stimulation oder Suppression der Sekretion um mindestens 50, besser 100 Prozent vom Basalwert abweichen und diese Ergebnisse reproduzierbar sind.

- (8) BETHGE, H.,
D. v. d. NAHMER,
H. ZIMMERMANN
Der Insulinhypoglykämie-Test als Funktionsprüfung des Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Systems. I. bei Normalpersonen. *Acta Endocr. (Kbh.)* 54, 668 (1967)
- (9) BOTTERMANN, P.,
R. ERMER,
J. HENNER
A semiautomatic method for immunoassay of insulin and human growth hormone. *Horm. Med. Res.* 3, 55 (1971)
- (10) BRAZEAU, P.,
W. VALE,
R. BURGUS,
N. LING,
M. BUTCHER,
J. RIVIER,
R. GUILLEMIN
Hypothalamic polypeptide that inhibits the secretion of immunoreactive pituitary growth hormone. *Science* 179, 77 (1973)
- (11) CAMERON, D. P.,
H. G. BURGER,
K. J. CATT,
E. GORDON,
J. MCK. WATTS
Metabolic clearance of human growth hormone in patients with hepatic and renal failure and in the isolated perfused pig liver. *Metabolism* 21, 895 (1972)
- (12) CATT, K. J.
Radioimmunoassay with antibody coated discs and tubes. *Acta endocr. Suppl.* 142, 222 (1969)
- (13) CERASI, E.,
L. DELLA,
R. LUFT,
A. ROOVETE
Determination of hGH in plasma by a double antibody radioimmunoassay. *Acta endocr.* 53, 101 (1966)
- (14) COPINSCHI, G.,
L. C. WEGIENKA,
S. HANE,
P. H. FORSHAM
Effect of arginine on serum levels of insulin and growth hormone in obese subjects. *Metabolism* 16, 485 (1967)
- (15) CRYER, P. E.,
A. G. CORAN,
B. S. KEENAN,
J. SODE
Cessation of growth hormone secretion associated with acute elevation of the serum - free fatty acid concentration. *Metabolism*, 21, 867 (1972)
- (16) CRYER, P. E.
W. H. DAUGHADAY
Regulation of growth hormone secretion in acromegaly. *J. Clin. Endocr.* 29, 386 (1969)

- (17) DABEK, J. T. Bronchial carcinoid tumor with acromegaly in two patients. *J. Clin. Endocr.* 38, 329 (1974)
- (18) DAUGHADAY, W. H., The role of the hypothalamus in the pathogenesis of pituitary tumors.
P. E. CRYER,
L. S. JACOBS In: *Diagnosis and Treatment of Pituitary Tumors*.
Eds. P. O. Kohler, G. T. Ross
Excerpta medica, Amsterdam, 1973
- (19) DIETERLE, P. C., Erfahrungen mit einer kolorimetrischen Methode zur Bestimmung der nicht veresterten Fettsäuren im Serum.
C. WÜLFERT-HELDRICH,
J. HENNER,
K. SCHWARZ *Z. Klin. Chem. Klin. Biochem.* 6, 3 (1968)
- (20) DUDL, R. J., Effect of age on growth hormone secretion in man.
J. W. ENSINCK,
H. E. PALMER,
R. H. WILLIAMS *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 37, 11 (1973)
- (21) FAIMAN, C., Diurnal cycles in plasma FSH, testosterone and cortisol in men.
J. S. D. WINTER *J. Clin. Endocr.* 33, 185 (1971)
- (22) FELD, S., Nonautonomous behavior of plasma growth hormone in active acromegaly.
R. KJELLBERG,
B. KLIMAN *Clin. Res.* 17, 283 (1969)
- (23) FLOYD, J. C., Stimulation of insulin secretion by amino acids.
S. S. FAJANS,
R. F. KNOPF,
J. RULL,
J. W. CONN *Clin. Res.* 13, 323 (1965)
- (24) GALLAGHER, T. F., ACTH and cortisol secretory patterns in man.
K. YOSHIDA,
H. D. ROFFWARG,
D. K. FUKUSHIMA,
E. D. WEITZMAN *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 36, 1058 (1973)
- (25) GLICK, S. M. Hypoglycemic threshold for human growth hormone release.
J. Clin. Endocr. 30, 619 (1970)

- (26) GLICK, S. M.,
J. ROTH,
E. T. LONERGAN
Survival of Endogenous Human
Growth Hormone in Plasma.
J. Clin. Endocr. 24, 501 (1964)
- (27) GLICK, S. M.,
J. ROTH,
R. S. YALOW,
S. A. BERSON
Immunoassay of human growth
hormone in plasma.
Nature (London) 199, 784 (1963)
- (28) GORDON, P.,
C. M. HENDRICKS,
J. ROTH
Evidence for "big" and "little"
components of human plasma and
pituitary growth hormone.
J. Clin. Endocr. 36, 178 (1973)
- (29) GOTTMANN, M.,
K. von WERDER,
H. HUFF,
F. ERHARDT, und
A. SOUVATZOGLOU,
J. KLEMM,
P. C. SCRIBA
Somatotropin-, TSH-, LH- und
Prolactinspiegel im Bulbus
cranialis venae jugularis.
Verh. Dtsch. Ges. Mün. Med. 80
(1974)
- (30) GREENSPAN, F. S.,
C. H. LI,
M. E. SIMPSON,
H. M. EVANS
Bioassay of hypophyseal growth
hormone: The tibia test.
Endocrinology 45, 445 (1949)
- (31) GREENWOOD, F. C.,
J. LANDON,
T. C.B. STAMP
The plasma sugar, free fatty
acid, cortisol and growth hormone
response to insulin.
I. In control subjects.
J. Clin. Invest. 45, 429 (1966)
- (32) GREENWOOD, F. C.,
W. M. HUNTER,
J. S. GLOVER
The preparation of ^{131}J labeled
human growth hormone of high
specific radioactivity.
Biochem. J. 89, 114 (1963)
- (33) HALES, C. H.,
P. D. RANDLE
Immunoassay of insulin with
insulin-antibody precipitate.
Biochem. J. 88, 137 (1963)
- (34) HALL, K.,
R. LUFT
Growth hormone and somatomedin.
Advanc. metab. disorders 7, 1
(1974)

- (35) HAYASHIDA, T. Comparative Immunochemical studies of pituitary growth hormones. *Excerpta med. (Amst.) ICS*, 244, 25 (1972)
- (36) HELLMAN, L.,
F. NAKADA,
J. CURTI,
E. D. WEITZMAN,
J. KREAM,
H. ROFFWARG,
S. ELLMAN,
D. K. FUKUSHIMA,
T. F. GALLAGHER
Cortisol is secreted episodically by normal man.
J. Clin. Endocr. 30, 411 (1970)
- (37) HERINGTON, A. C.,
L. S. JACOBS,
W. H. DAUGHADAY
Radioreceptor and radioimmunoassay quantitation of human growth hormone in acromegalic serum: Overestimation by immunoassay and systematic differences between antisera.
J. Clin. Endocr. 39, 257 (1974)
- (38) HONDA, Y.,
K. TAKAHASHI,
S. TAKAHASHI,
K. AZUMI,
M. IRIE,
M. SAKUMA,
T. TSUSHIMA,
K. SHIZUME
Growth hormone secretion during nocturnal sleep in normal subjects.
J. Clin. Endocr. 29, 20 (1969)
- (39) ILLIG, R.,
M. ZACHMANN,
A. PRADER
Menschliches Wachstumshormon
Klin. Wschr. 3, 117 (1969)
- (40) KABAT, F. A.,
M. M. MAYER
Experimental Immunochemistry.
Charles C. Thomas, Springfield, Illinois U.S.A. 1961
- (41) KAPLAN, S. L.,
M. M. GRUMBACH
Growth hormone secretion in human fetus and in anencephaly.
Pediat. Res. 1, 308 (1967)
- (42) KLUGE, F.,
A. C. GERB,
N. BOSS,
R. FAHLBUSCH,
P. C. SCRIBA
Eine verbesserte fluorimetrische Cortisolbestimmung im Serum: Diagnostische Bedeutung und therapeutische Folgerungen bei NNR-Insuffizienz.
Klin. Wschr. 48, 929 (1970)

- (43) KRIEGER, D. T.,
G. P. GEWIRTZ
The nature of the circadian periodicity and suppressibility of immunoreactive ACTH levels in addison's disease.
J. Clin. Endocr. 39, 46 (1974)
- (44) LABHARDT, A.
Klinik der inneren Sekretion.
Springerverlag, Berlin - Heidelberg - New York 1971
- (45) LAWRENCE, A. M.,
J. D. GOLDFINE,
L. KIRSTEINS
Growth hormone dynamics in acromegaly.
J. Clin. Endocr. 31, 239 (1970)
- (46) L'HERMITE, M.,
P. DELVOYE,
J. NOKIN,
M. VEKEMANS,
C. ROBYN
Human prolactin secretion as studied by radioimmunoassay: Some aspects of its regulation. In: Prolactin and Carcinogenesis. Eds. A. R. Boyns, K. Griffiths, Alpha-Omega, Alpha Publishing, Cardiff, Wales, U.K., 1972
- (47) LI, C. H.,
W. K. LIU,
J. S. DIXON
Human pituitary growth hormone. XII. The aminoacid sequence of the hormone.
J. Amer. chem. Soc. 88, 2050 (1966)
- (48) LI, C. H.,
J. S. DIXON
Human pituitary growth hormone. XXXII. The primary structure of the hormone: Revision
Arch. Biochem. Biophys. 146, 233 (1971)
- (49) LUFT, R.,
E. CERASI
Human growth hormone as a regulator of blood glucose concentration and as a diabetogenic substance.
Diabetologia 4, 1 (1968)
- (50) MAC GILLIVRAY, M. H.,
L. A. FROHMAN,
J. DOE
Metabolic clearance and production rates of humane growth hormone in subjects with normal and abnormal growth.
J. Clin. Endocr. 30, 632 (1970)

- (51) MARIE, P. Sur deux cas d'acromegalie: Hypertrophie singulière non congénitale des extrémités supérieures, inférieures et céphalique. Rev. de med. 6, 297 (1886)
- (52) MARSCHNER, J.,
F. ERHARDT,
P. C. SCRIBA Calculation of the radio-immunoassay standard curve by "spline function". In: Radioimmunoassay and related procedures in medicine, Band I. Eds. E. J. Garcia, E. H. Belcher, IAEA, Wien 1974
- (53) MATTINGLY, D. A simple fluorimetric method for the estimation of free 11-hydroxycorticosteroids in human plasma. J. Clin. Path. 15, 374 (1962)
- (54) MERIMEE, T. J.,
D. A. LIILICRAP,
D. RABINOWITZ Effect of arginine on serum-levels of human growth hormone. Lancet 2, 668 (1965)
- (55) NAFTOLIN, F.,
S. S. C. YEN,
C. C. TSAI Rapid cycling of plasma gonadotropins in normal men as demonstrated by frequent sampling. Nature New Biology 236, 92 (1972)
- (56) NANKIN, R. H.,
P. TROEN Repetitive luteinizing hormone elevations in serum of normal men. J. Clin. Endocr. 33, 558 (1971)
- (57) OWENS, D.,
M. C. SRIVASTAVA,
C. V. TOMPKINS,
J. D. N. NABARRO, and
P. H. SÖNKSEN Studies on the metabolic clearance rate, apparent distribution space and plasma halfdisappearance time of unlabelled human growth hormone in normal subjects and in patients with liver disease, renal disease, thyroid disease and diabetes mellitus. Europ. J. clin. Invest. 3, 284 (1973)
- (58) PAPKOFF, H.,
C. H. LI Hypophyseal growth hormone. In: Methods in hormone research. Ed. R. J. Dorfman. Academic Press, New York, 1962

- (59) PARKER, D. C.,
L. G. ROSSMAN,
E. F. VANDERLAAN
Sleep-related, nyctohemeral and briefly episodic variation in human plasma prolactin concentrations.
J. Clin. Endocr. 36, 1119 (1973)
- (60) PLOTNICK, L. P.,
R. G. THOMPSON,
A. KOWARSKI,
L. de LACERDA,
C. L. MIGEON,
R. M. BLIZZARD
Circadian variation of integrated concentrations of growth hormone in children and adults.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 40, 240 (1975)
- (61) QUABBE, H. J.,
H. BRATZKE,
U. SIEGERS,
K. ELBAU
Studies on the relationship between plasma free fatty acids and growth hormone secretion in man.
J. clin. Invest. 51, 2388 (1972)
- (62) QUABBE, H. J.,
E. SCHILLING,
H. HELGE
Pattern of growth hormone secretion during a 24-hour fast in normal adults.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 26, 1173 (1966)
- (63) REFETOFF, S.,
P. H. SÖNKSEN
Disappearance rate of endogenous and exogenous human growth hormone in man.
J. Clin. Endocr. 30, 386 (1970)
- (64) ROSA, U.
A method for protein labelling with radioiodine. In: Nuklearmedizin, Beilage zur Atompraxis, Heft 6, 1966
- (65) ROTH, J.,
S. M. GLICK,
R. S. YALOW,
S. A. BERSON
Hypoglycemia: A potent stimulus to secretion of growth hormone.
Science 140, 987 (1963)
- (66) ROTH, J.,
S. M. GLICK,
R. S. YALOW,
S. A. BERSON
Secretion of human growth hormone. Physiologic and experimental modification.
Metabolism 12, 577 (1963)

- (67) SASSIN, J. F.,
D. C. PARKER,
J. W. MACE,
R. W. GOTLIN,
L. C. JOHNSON,
L. G. ROSSMAN
Human growth hormone release:
Relation to slow-wave sleep and
sleep-waking cycle.
Science 165, 153 (1969)
- (68) SCRIBA, P. C.,
K. von WERDER
Hypothalamus und Hypophyse.
In: Klinische Pathophysiologie.
Ed. Walter Siegenthaler
G. Thieme Verlag, Stuttgart, 1975
- (69) SCHALCH, D. S.,
M. L. PARKER
A sensitive double antibody
immunoassay for human growth hor-
mone in plasma.
Nature 203, 1141 (1964)
- (70) SCHALLY, A. V.,
E. E. MÜLLER,
S. SAWANO
The amino acid sequence of
porcine growth hormone -
releasing hormone.
J. biol. Chem. 246, 6647 (1971)
- (71) SMITH, R. E.,
M. G. FARQUHAR
Lysosome function in the regula-
tion of the secretory process in
cells of the anterior pituitary
gland.
J. Cell. Biol. 31, 319 (1966)
- (72) TAKEBE, K.,
M. SAKAKURA,
K. MASHIMO
Continuance of diurnal rhythmi-
city of CRF activity in hypo-
physectomized rats.
Endocrinology 90, 1515 (1972)
- (73) TAYLOR, A. L.,
J. L. FINSTER,
D. H. MINTZ
Metabolic clearance production
rates of human growth hormone.
J. Clin. Invest. 48, 2349 (1969)
- (74) TAYLOR, A. L.,
R. L. LIPMAN,
A. SALAM,
D. H. MINTZ
Hepatic clearance of human growth
hormone.
J. Clin. Endocr. 34, 395 (1972)
- (75) THOMPSON, R. G.,
A. RODRIGUEZ,
A. KOWARSKI,
R. M. BLIZZARD
Growth hormone: metabolic clearan-
ce rates, integrated concentra-
tions and production rates in
normal adults and the effect of
Prednisone.
J. Clin. Invest. 51, 3193 (1972)

- (76) UTIGER, R. D.,
M. L. PARKER,
W. H. DAUGHADAY
Studies on human growth hormone.
I. A radioimmunoassay for human
growth hormone.
J. Clin. Invest. 41, 254 (1962)
- (77) VAGNUCCI, A. H.,
R. H. McDONALD jr.,
A. L. DRASH,
A. K. C. WONG
Intradiem changes of plasma
aldosterone, cortisol, cortic-
osterone and growth hormone in
sodium restriction.
J. Clin. Endocr. 38, 761 (1974)
- (78) VARMA, S. K.,
P. H. SÖNKSEN,
K. VARMA,
J. S. SOELDNER,
H. A. SELENKOW, und
K. EMERSON
Measurement of human growth hor-
mone in pregnancy and correlation
with human placental lactogen.
J. Clin. Endocr. 32, 328 (1971)
- (79) VIGNERI, R.,
S. SQUATRITO,
V. PEZZINO,
E. CINQUERUI,
S. PROTO,
C. MONTONERI
Spontaneous fluctuations of human
placental lactogen during normal
pregnancy.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 40,
506 (1975)
- (80) WEITZMAN, E. D.,
D. K. FUKUSHIMA,
C. NOGEIRE,
H. ROFFWARG,
T. F. GALLAGHER,
L. HELLMAN
Twenty-four-hour pattern of the
episodic secretion of cortisol in
normal subjects.
J. Clin. Endocr. 33, 14 (1971)
- (81) WERDER, K. von
Wachstumshormone und Prolaktin-
sekretion des Menschen. Physio-
logie und Pathophysiologie.
Urban & Schwarzenberg, München
1975
- (82) WERDER, K. von,
K. SCHWARZ
Regulation der Sekretion von
Wachstumshormon beim Menschen.
Dtsch. med. Wschr. 96, 2012 (1971)
- (83) WERDER, K. von,
C. DESALM,
S. GALLENBERGER,
M. GOTTMANN, und
P. C. SCRIBA
Radioimmunologic behaviour of en-
dogenous and exogenous human
growth hormone.
In: Radioimmunoassay and related
procedures in clinical medicine
and research, Band I.
Eds.: E. J. Garcia, E.H. Belcher,
IAEA Wien 1974

- (84) WIELAND, R. G., Growth hormone response to intra-
M. C. HALLBERG, muscular glucagon.
E. ZORN J. Clin. Endocrinol. Metab. 37,
329 (1973)
- (85) YALOW, R. S., Immunoassay of endogenous plasma
S. A. BERSON insulin in man.
J. Clin. Invest. 39, 1157 (1960)

LEBENS LAUF

Am 14. 7. 1950 wurde ich als drittes Kind des Amtsgerichtsrates Dr. Ludwig Huff und seiner Ehefrau Gertrud, geb. Reinhardt, in Arnstorf/Kreis Eggenfelden geboren.

Nach Übersiedlung meiner Familie nach Landshut besuchte ich dort von 1956 bis 1960 die Volksschule und dann den neusprachlichen Zweig des Hans Carossa-Gymnasiums, wo ich im Juni 1969 das Abitur ablegte.

Im Wintersemester 1969 begann ich an der Ludwig Maximilians-Universität München das Studium der Humanmedizin und bestand 1972 das Physikum, im Juli 1975 das medizinische Staatsexamen.

Von November 1975 bis November 1976 war ich als Medizinalassistent in der Medizinischen Klinik Innenstadt der Universität München, in der II. Chirurgischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses München-Schwabing und zuletzt in der Chiemseeklinik Prien tätig, wo ich seit Erhalt der Approbation am 28. 12. 1976 als Assistenzarzt arbeite.

Am 26. 1. 1977 heiratete ich die Studienreferendarin Edith Pöschl.

Die vorliegende Arbeit begann ich im Dezember 1972 im Labor für experimentelle Endokrinologie der Medizinischen Klinik Innenstadt der Universität München.

